



Tesis Doctoral

**“Estudios comparativos de Fenología en
Aerobiología”**

Alejandro Monroy Colín

Programa de Doctorado

**Modelización y Experimentación en Ciencia y
Tecnología**

2020

Preámbulo



Tesis Doctoral

**ESTUDIOS COMPARATIVOS DE FENOLOGÍA EN
AEROBIOLOGÍA**

ALEJANDRO MONROY COLÍN

**PROGRAMA DE DOCTORADO: MODELIZACIÓN Y
EXPERIMENTACIÓN EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA**

CONFORMIDAD DE LOS DIRECTORES:

Fdo: Dr. Santiago Fernández Rodríguez

Dr. José María Maya Manzano

2020

Informe razonado de los Directores de Tesis

Dr. Santiago Fernández Rodríguez, profesor Contratado Doctor de la Escuela Politécnica de Cáceres en la Universidad de Extremadura y Dr. José María Maya Manzano, investigador del centro de Alergia y Medio Ambiente (ZAUM) de la Universidad Técnica de Munich (TUM), en calidad de directores, informan:

que la citada Tesis Doctoral se ha realizado bajo nuestra dirección en el Área de Botánica de la Facultad de Ciencias, siendo realizada por el doctorando Alejandro Monroy Colín. El trabajo se planteó como un amplio estudio sobre la fenología de la vegetación urbana de Badajoz, estudiando diferencias y similitudes entre tipos polínicos y la consecuente liberación de polen al aire. En primer lugar, se realizó una revisión bibliográfica de las técnicas más novedosas y las especies a estudiar. Se ha seguido una metodología normalizada basada en la identificación botánica de las especies aerobiológicas de interés, las cuales fueron inventariadas y geolocalizadas para realizar el seguimiento fenológico. Por otra parte, se realizó el recuento del contenido aerobiológico en un período de tiempo suficiente para obtener resultados y conclusiones que han sido publicados en revistas científicas del ámbito de investigación con índice de impacto. Por tanto, consideramos que bajo nuestra dirección se reúnen los requisitos necesarios para ser presentada mediante la modalidad de Tesis por compendio de publicaciones a la comisión de la Universidad de Extremadura para su exposición y defensa.

Y para que así conste, y en cumplimiento de la legislación vigente, se firma la presente en Badajoz, a 18 de junio de 2020.

Fdo.: Dr. Santiago Fernández Rodríguez

Fdo. Dr. José María Maya Manzano

Informe sobre aportaciones derivadas de la Tesis Doctoral y el factor de impacto de las revistas científicas (Journal Citation Reports)

Publicaciones en revistas científicas (Capítulos de la Tesis Doctoral)

1. **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S. & Gonzalo-Garijo Á. 2018. *Environmental analysis of airborne pollen records, pollen source distribution and phenology of Fraxinus angustifolia*. *Aerobiologia*, 34 N° 4, 269-283. Springer, Holanda, 2018, 0393-5965. 1.931 (JCR 2018). 37/87 2º cuartil 2º tercio.
2. **Monroy-Colín A.**, Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Pecero-Casimiro R., Gonzalo-Garijo Á. & Fernández-Rodríguez S. 2020. *HYSPLIT as an environmental impact assessment tool to study the data discrepancies between Olea europaea airborne pollen records and its phenology in SW Spain*. *Urban Forestry & Urban Greening*, N° 53. 126715. Springer, Holanda, 2020. 3.043 (JCR 2019). 1º cuartil.
3. **Monroy-Colín A.**, Maya-Manzano J.M., Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Pecero-Casimiro R., Gonzalo-Garijo Á. & Fernández-Rodríguez S. 2020. *Phenology of Cupressaceae urban infrastructure related to their pollen content and meteorological variables*. *Aerobiologia*, DOI: 10.1007/s10453-020-09645-9. Springer, Holanda, 2018, 0393-5965. 1.931 (JCR 2018). 37/87 2º cuartil 2º tercio.

Publicaciones en revistas científicas (Otras publicaciones derivadas)

1. Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., **Monroy-Colín A.**, Pecero-Casimiro R., Buters J. & Oteros J. 2020. *Understanding hourly patterns of Olea pollen concentrations as tool for the environmental impact assessment*. Science Total Environment. 736 (2020) 139363. Editorial. Elsevier Science BV, Holanda, 2019, 1618-8667. 5.589 (JCR 2018). Environmental Sciences 27/250 1º cuartil 1er tercio.
2. González-Naharro R., Quirós E., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Pecero-Casimiro R., **Monroy-Colín A.** & Gonzalo-Garijo Á. *Relationship of NDVI and oak (Quercus) pollen including a predictive model in the SW Mediterranean región*. Science Total. Environment. 2019; 676:407-419. Editorial. Elsevier Science BV, Holanda, 2019, 1618-8667. 5.589 (JCR 2018). Environmental Sciences 27/250 1º cuartil 1er tercio.
3. Fernández-Rodríguez S., Durán-Barroso P., Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., Gonzalo-Garijo Á. & **Monroy-Colín A.** *Environmental assessment of allergenic risk provoked by airborne grass pollen through forecast model in a Mediterranean region*. Journal of Cleaner Production. 176 N° DOI. 1304-1315. Elsevier Science BV, Inglaterra. 2018. ISSN. 0959-6526. 6.395 (2018). Engineering, Environmental 8/52 1º cuartil 1er tercio.
4. González-Naharro R., Quirós E., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., **Monroy-Colín A.**, Pecero-Casimiro R. & Gonzalo-Garijo Á. "Spearman Correlation between the NDVI and Quercus Airborne Pollen in the SW of the Iberian Peninsula". Proceedings 2018, 2(29): 1519.
5. Maya-Manzano J.M., Fernández Rodríguez S., **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Tormo-Molina R. & Gonzalo-Garijo Á. *Allergenic pollen of ornamental plane trees in a Mediterranean environment and urban planning as a prevention tool*.

Urban Forestry & Urban Greening. 27, 352-362. Editorial. Elsevier Science BV, Holanda, 2017, 1618-8667. 2.782 (JCR 2017). Forestry 5/66 1º cuartil 1er tercio.

6. Silva-Palacios I., Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., **Monroy-Colín A.**, Gonzalo-Garijo A., Muñoz-Rodríguez A.F., Tavira Muñoz J., Paulino R., Cosmes P.M., Domínguez C., Alvarado-Izquierdo M.I., Fernández-Moya L., Alfonso-Sanz J.V., Vaquero Pérez P. & Pérez Marín M. L., *La red extremeña de Aerobiología*. Revista salud ambiental 2016; 16(1):62-70. No Indexada.

Publicaciones en libros científicos (Otras publicaciones derivadas)

1. Rafael Tormo Molina, Francisco Javier Valtueña Sánchez, Santiago Fernández Rodríguez, José María Maya Manzano, Inmaculada Silva Palacios, Ángela Gonzalo Garijo & **Alejandro Monroy Colín**. Guía Botánica del Campus de Badajoz de la Universidad de Extremadura Hongos que desarrollan setas. 191 páginas. Editorial: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Extremadura. Ciudad/País: España Año de publicación: 2017. I.S.B.N.: 978-84-697-4121-4.

Comunicaciones presentadas en congresos nacionales e internacionales

Nacionales

1. Pecero-Casimiro R., Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo A. & **Monroy-Colín A.**, *Mapas de riesgo urbano: herramienta aerobiológica informativa para la población*. Comunicación oral. XV Congreso Español y V Congreso Iberoamericano de Salud Ambiental, y II Jornada de la Asociación Española de Aerobiología. Valencia, España 22-24 de mayo 2019.
2. Pecero-Casimiro R., Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo A. y **Monroy-Colín A.**, *Calendario aerobiológico actualizado de zonas rurales de Extremadura (Don Benito y Zafra)*. Comunicación oral. XV Congreso Español y V Congreso Iberoamericano de Salud Ambiental, y II Jornada de la Asociación Española de Aerobiología. Valencia, España 22-24 de mayo 2019.
3. **Monroy-Colín A.**, Fernández-Rodríguez S., Pecero-Casimiro R., Maya-Manzano J.M., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo Á. y Tormo-Molina R., *Esporas aerovagantes en dos localidades de la provincia de Cáceres (Plasencia y Cáceres)*. Comunicación oral. XIV Congreso Nacional de Micología. Tarragona, España 19-21 de septiembre 2018.
4. Pecero-Casimiro R., Fernández-Rodríguez S., **Monroy-Colín A.**, Maya-Manzano J.M., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo Á. y Tormo-Molina R., *Esporas aerovagantes en dos localidades de la provincia de Badajoz (Don Benito y Zafra)*. Comunicación oral. XIV Congreso Nacional de Micología. Tarragona, España 19-21 de septiembre 2018.
5. **Monroy-Colín A.**, Fernández-Rodríguez S., Pecero-Casimiro R., Maya-Manzano J.M., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo Á. y Tormo-Molina R., *Presencia en el aire de Plasencia (Cáceres) de esporas de repetición de royas*. Póster. XIV Congreso Nacional de Micología. Tarragona, España 19-21 de septiembre 2018.
6. Crespo Lomas N., Tormo-Molina R., Silva-Palacios I., Pecero-Casimiro R., **Monroy-Colín A.** y Fernández-Rodríguez S., *“Presencia de propágulos fúngicos*

- en la ciudad de Badajoz. Póster. XIV Congreso Nacional de Micología. Tarragona, España 19-21 de septiembre 2018.
7. González-Navarro R., Quirós E., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., **Monroy-Colín A.**, Pecero-Casimiro R. y Gonzalo-Garijo Á. *Spearman correlation between the NDVI and Quercus airborne pollen in the SW of the Iberian Peninsula*. Comunicación oral. Environment, Green Technology and Engineering International Conference. Cáceres, España. 18-20 de junio 2018.
 8. **Monroy-Colín A.** y Pecero-Casimiro R. *Aerobiología: granos de polen y esporas de hongos en el aire*. Comunicación oral. IV Congreso multidisciplinar de jóvenes investigadores de Extremadura. Badajoz, España. 30 de mayo 2018.
 9. Pecero-Casimiro R y **Monroy-Colín A.** *Captación de polen y esporas. Procesado de muestras*. Comunicación oral. IV Congreso multidisciplinar de jóvenes investigadores de Extremadura. Badajoz, España. 30 de mayo 2018.
 10. Gonzalo-Garijo Á., Silva-Palacios I., Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., **Monroy-Colín A.** y Tormo-Molina R., *Valores máximos de concentración de pólenes aerovagantes en Extremadura*. Póster (premiado). Simposio Internacional de Aerobiología, contaminación y cambio climático. Murcia, España. 26-28 de octubre 2017.
 11. Maya-Manzano J.M., **Monroy-Colín A.**, Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., Silva-Palacios I. y Gonzalo-Garijo A., *LIDAR as a powerful tool for mapping ornamental Plane trees and to determine their biological risk in urban development*. Comunicación oral. II Congreso Internacional de ordenación territorial y gestión ambiental. Cáceres, España. 9-11 de octubre 2017.
 12. **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., y Gonzalo-Garijo A., *Pollen production and geolocation of Casuarina cunninghamiana*. Comunicación oral. Mediterranean Palynology Symposium 2017. Barcelona, España. 4-6 de septiembre 2017.
 13. **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., y Gonzalo-Garijo A. *Plane tree pollination phenology and airborne pollen records*. Comunicación oral. Mediterranean Palynology Symposium 2017. Barcelona, España. 4-6 de septiembre 2017.

14. **Monroy-Colín A.**, Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Maya-Manzano J.M., y Gonzalo-Garijo A., *Aerobiological comparison between Plasencia and Cáceres (SW Spain)*. Póster. Mediterranean Palynology Symposium 2017. Barcelona, España. 4-6 de septiembre 2017.
15. **Monroy-Colín A.**, Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I. y Gonzalo-Garijo A., *Seasonal and hourly pattern of airborne aeciospores*. Comunicación oral. XXI Simposio de Botánica Criptogámica. Aranjuez, España. 20-24 de junio 2017.
16. **Monroy-Colín A.**, Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Silva-Palacios I. y Gonzalo-Garijo A., *Seasonal presence of Boletaceae airborne spores in the air*. Póster. XXI Simposio de Botánica Criptogámica. Aranjuez, España. 20-24 de junio 2017.
17. **Monroy-Colín A.**, Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Maya-Manzano J.M. y Gonzalo-Garijo A., *Comparative study of airborne Alternaria conidia in Plasencia and Cáceres*. Póster. XXI Simposio de Botánica Criptogámica. Aranjuez, España. 20-24 de junio 2017.
18. **Monroy-Colín A.**, Fernández-Rodríguez S., Maya Manzano J. M., Tormo Molina R.; Silva Palacios I. y Gónzalo Garijo A., *Distribución horaria y diaria de esporas de Coprinus en el aire*. Comunicación oral. XIII Congreso Nacional de Micología. Lleida, España. 20-22 de junio de 2016.
19. **Monroy-Colín A.**, Fernández-Rodríguez S., Maya Manzano J. M., Tormo Molina R.; Silva Palacios I. y Gónzalo Garijo A., *Conidios aerovagantes de Alternaria y Drechslera en el aire de Cáceres durante invierno y otoño*. Póster. XIII Congreso Nacional de Micología. Lleida, España. 20-22 de junio de 2016.
20. Berciano Ramírez E. M; **Monroy-Colín A.**, Fernández-Rodríguez S., Maya Manzano J. M., Tormo Molina R.; Silva Palacios I. y Gónzalo Garijo A., *Esporas y propágulos fúngicos aerovagantes en la ciudad de Cáceres*. Póster. XIII Congreso Nacional de Micología. Lleida, España. 20-22 de junio de 2016.

Internacionales

1. **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Gonzalo-Garijo Á. y Pecero-Casimiro R. *Airborne pollen records and phenology of Quercus rotundifolia*. Mediterranean Palynological Societies Symposium 2019. Bordeaux, Francia. 9-11 de julio 2019.
2. **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Gonzalo-Garijo Á. y Pecero-Casimiro R. *Airborne pollen records, phenology and geolocation of plane tree (Platanus sp)*. Mediterranean Palynological Societies Symposium 2019. Bordeaux, Francia. 9-11 de julio 2019.
3. Fernández-Rodríguez S., Quevedo-Martínez E., Cortés-Pérez J.P., Morillo-Barragán J., Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Silva-Palacios I., Pecero-Casimiro R. y **Monroy-Colín A.**, *Light Detection and Ranging on Building Modelling Information as tool for urban planning by green infrastructure of Cupressaceae spp*. Comunicación oral. Mediterranean Palynological Societies Symposium 2019. Bordeaux, Francia. 9-11 de julio 2019.
4. Fernández-Rodríguez S., Guerrero-Ramírez J., Morillo-Barragán J., Tormo-Molina R., Silva-Palacios I. Gonzalo-Garijo Á., Pecero-Casimiro R., **Monroy-Colín A.** Maya-Manzano J.M., Durán-Barroso P. *Mobile application of airborne particles and potencial sources in Extremadura network of Aerobiology*. Comunicación oral. Mediterranean Palynological Societies Symposium 2019. Bordeaux, Francia. 9-11 de julio 2019.
5. Pecero-Casimiro R., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Morillo-Barragán J., Guerrero-Ramírez J., Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I. y Gonzalo-Garijo Á., *Relationship between NDVI using Sentinel and Olea airborne pollen in SW of the Iberian Peninsula*. Comunicación oral. Mediterranean Palynological Societies Symposium 2019. Bordeaux, Francia. 9-11 de julio 2019.
6. Pecero-Casimiro R., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo Á., **Monroy-Colín A.** y Maya-Manzano J.M., *AIROT applied for the creation or urban risk maps for Cupressaceae family*. Comunicación oral. Mediterranean Palynological Societies Symposium 2019. Bordeaux, Francia. 9-11 de julio 2019.

7. **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Gonzalo-Garijo Á. y Pecero-Casimiro R. *Airborne pollen records and phenology of Olea europaea*. Comunicación oral. 11th International Congress on Aerobiology. Parma, Italia. 2-7 de septiembre 2018.
8. **Monroy-Colín A.**, Tormo-Molina R., Silva-Palacios I., Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Gonzalo-Garijo Á. y Pecero-Casimiro R. *Airborne pollen records and phenology of Cupressaceae*. Comunicación oral. 11th International Congress on Aerobiology. Parma, Italia. 2-7 de septiembre 2018.
9. Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., **Monroy-Colín A.**, Pecero-Casimiro R., Silva-Palacios I. y Gonzalo-Garijo Á. *Urban risk mapping of ornamental trees using airoT, a new aerobiological index by applications of LIDAR and KRIGING. A study case over plane trees*. Comunicación oral. 11th International Congress on Aerobiology. Parma, Italia. 2-7 de septiembre 2018.
10. Pecero-Casimiro R., Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Gonzalo-Garijo Á., Silva-Palacios I. y **Monroy-Colín A.** *Aerobiological comparison between Zafra and Don Benito (SW Spain)*. Póster. 11th International Congress on Aerobiology. Parma, Italia. 2-7 de septiembre 2018.
11. Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Gonzalo-Garijo Á., **Monroy-Colín A.** y Pecero-Casimiro R. *Accumulated temperature and Plane tree airborne pollen presence in the air*. Póster (premiado). 11th International Congress on Aerobiology. Parma, Italia. 2-7 de septiembre 2018.
12. Silva-Palacios I., Maya-Manzano J.M., Tavira-Muñoz J., Moreno-Corcheró A., Fernández-Rodríguez S., **Monroy-Colín A.**, Pecero-Casimiro R., Gonzalo-Garijo Á., Cosmes-Martín P., Blanco-Pérez R.M., Domínguez-Noche C., Alvaro-Izquierdo M.I., Gómez-Nieves E., Fernández-Moya L., Sánchez-Vega S., Alfonso Sanz J.V., Vaquero-Pérez P., Pérez-Martín M.L., Muñoz-Rodríguez A.F. y Tormo-Molina R., *APIN (Annual Pollen Integral) values in the Extremadura (SW Spain) Aerobiological Network (AEROUEX)*. Póster. 11th International Congress on Aerobiology. Parma, Italia. 2-7 de septiembre 2018.
13. Fernández-Rodríguez S., Gonzalo-Garijo Á., Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., J.M. Maya-Manzano, **Monroy-Colín A.**, Pecero-Casimiro R., Pérez-Calderón R. *Pollen sensitization in Badajoz and relationship with airborne pollen presence (SW*

- Spain). Comunicación oral. VIII SPB Clinical Biochemistry Workshop. Universidad de Évora. Évora, Portugal. 24 febrero 2018.
14. Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo Á., *Cartografía de árboles ornamentales para determinar su riesgo biológico en el desarrollo urbano utilizando LIDAR en Europa del Suroeste*. Comunicación oral. XIII Congreso Internacional de Investigación Científica. Santo Domingo, República Dominicana. 8-9 de junio 2017.
15. **Monroy-Colín A.**, Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S. y Gonzalo-Garijo Á., *Airborne pollen records and phenology of Fraxinus angustifolia*. Comunicación oral. 6th European Symposium on Aerobiology. Lyon, Francia. 17-22 de julio de 2016.
16. Fernández-Rodríguez S., **Monroy-Colín A.**, Tormo Molina R., Maya-Manzano J.M., Gonzalo Garijo Á. y Silva-Palacios I., *Allergenic potential for a new garden in river Banks of Badajoz (SW Spain)*. Comunicación oral. 6th European Symposium on Aerobiology. Lyon, Francia. 17-22 de julio de 2016.
17. **Monroy-Colín A.**, Moreno-Paredes E., Chaparro-Morán J., Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., *Airborne pollen in Cáceres (SW Spain)*. Póster. 6th European Symposium on Aerobiology. Lyon, Francia. 17-22 de julio de 2016.
18. Maya-Manzano J.M., S. Fernández-Rodríguez, **Monroy-Colín A.**, I. Silva-Palacios, R. Tormo-Molina y Á. Gonzalo-Garijo. *Ornamental trees with allergenic pollen in urban E-planning. The case of plane trees (Platanus spp.) in a Mediterranean environment*. Comunicación oral. International conference urban E-planning: Recent developments, emerging issues and future challenges. Lisbon, Portugal. 31, marzo-01 de abril 2016.
19. **Monroy-Colín A.**, S. Fernández-Rodríguez, Maya Manzano J. M., Silva Palacios I., Gónzalo Garijo A., Tormo Molina R. y Barrigón Morillas J. M. *Airborne basidiospores of Coprinus and Agrocybe types and their influence of rain in spring*. Comunicación oral. XX Simpósio de Botânica Criptogâmica. Porto, Portugal. 22-25 de julio 2015.

Agradecimientos

Gracias a la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) del gobierno de México por su financiamiento para la realización de esta investigación. A la Universidad de Extremadura por su recibimiento; y a todo el Área de Botánica por su compañerismo, apoyo y gran acogida en estos años. Sin duda cada uno de vosotros me hicieron sentir en casa desde el primer día que llegué al laboratorio.

Una Tesis Doctoral implica un enorme esfuerzo y sacrificio en el cual se hacen partícipes a distintas personas que comparten diversos momentos durante el desarrollo de esta. Sin duda ha sido un camino largo y complicado que me ha permitido conocer a numerosas personas y, de muchas de ellas, aprovechar su experiencia y vocación, personas a las que deseo expresarles mis agradecimientos en este espacio. Sin más preámbulo me gustaría agradecer:

En primer lugar, al Dr. Rafael Tormo Molina por confiar en mí y permitirme incorporarme a su grupo de trabajo, gracias por las horas, la paciencia, su orientación y asesoría en el inicio de esta investigación. Gracias por compartir su conocimiento y por los consejos dentro y fuera del laboratorio, sin duda es un gran ejemplo que seguir.

Al Dr. Santiago Fernández Rodríguez por su dirección de este trabajo, su orientación, su apoyo y motivación a mejorar día con día.

Al Dr. José María Maya Manzano por su dirección, paciencia, su apoyo y su basta orientación en la identificación de granos de polen y esporas. Gracias por sus consejos para mejorar, sin duda es un ejemplo de constancia. ¡De verdad, muchas gracias por todas esas horas que echamos en el laboratorio!

A Raúl Pecero Casimiro por su compañerismo en estos últimos años en el laboratorio, gracias por esas charlas, risas y compañía durante los congresos. ¡Vaya qué tenemos anécdotas por contar!

Gracias al resto del equipo de la Red Extremeña de Aerobiología, que no los menciono uno a uno para no olvidarme de ninguno. Gracias por el apoyo en la toma de muestras, en el análisis de datos, las correcciones y apoyo en general.

A mis amigos/as por sus ánimos, comprensión, apoyo y recibimiento, no es fácil encontrar gente como vosotros a miles de kilómetros de casa. Y a pesar de que la Tesis

ha robado gran parte de mi tiempo con vosotros/as, han estado siempre conmigo animándome y apoyándome. Muchas gracias Nuria Igartua por tu inmenso cariño y tu gran amistad, valoro a más no poder tu compañía tanto en los buenos como en los malos momentos. Gracias a Javier Pagán, Ibtissam Khattabi, Jennifer Viejo, Emilio Fernández, Ramón Anselmo, German Montero y Alfonso Pantoja por hacer más llevadera mi estancia en esta hermosa tierra, por vuestro apoyo, cariño y amistad.

A Pedro Guerrero por su gran apoyo, principalmente en estos últimos meses de confinamiento y ardua escritura, por esos cafés, el chocolate y esos momentos de despejar la mente, sin duda eres una pieza clave en esta última etapa, gracias por todo tu cariño y apoyo.

Por último, pero no menos importante, GRACIAS a los pilares de mi vida, a mi madre y mis hermanos, gracias por todo. Soy como soy gracias a ellos. Gracias por creer en mí y por confiar en mis capacidades. Gracias por ese apoyo incondicional y vuestra compañía a pesar de la distancia y porque nunca han dudado de que podía conseguir este sueño, sueño que finalmente se ve cumplido. Gracias por ser mi fortaleza en momentos de debilidad, por ser mis cómplices en momentos de alegría, por ser mi fuente de motivación, inspiración y constancia. Gracias a mi padre por su apoyo. Gracias a mi madre por su inmenso amor, su apoyo incondicional y porque con sus palabras de aliento día con día no me dejaba decaer para seguir adelante estando lejos de todo y de todos. Gracias por esos valores transmitidos y por haberme inculcado esas ganas de superación y de ser una persona de bien.

¡Gracias a todos y cada uno de vosotros!

Il più grande pericolo per molti di noi non sta nel fatto che i nostri obiettivi siano troppo elevati e quindi non riusciamo a raggiungerli, ma nel fatto che siano troppo bassi e che li si raggiunga.

Michelangelo Buonarroti

El mayor peligro para la mayoría de nosotros no es que nuestra meta sea demasiado alta y no la alcancemos, sino que sea demasiado baja y la consigamos.

Michelangelo Buonarroti

Índice

PREÁMBULO	2
AGRADECIMIENTOS	16
ÍNDICE	20
1. RESUMEN	22
1.1 ABSTRACT.....	24
2. INTRODUCCIÓN	26
2.1. Definición, orígenes e importancia de la Aerobiología	26
2.2. Grano de polen	31
2.2.1. Características.....	33
2.2. Procesos aerobiológicos	36
2.3. Métodos de muestreo en Aerobiología	39
2.4. Factores que influyen en el contenido aerobiológico.....	42
2.5. Tipos estudiados	47
2.5.1. <i>Fraxinus angustifolia</i>	47
2.5.2. Cupressaceae	49
2.5.3. <i>Olea europaea</i>	51
2.6. Modelización ambiental	52
3. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE PARTIDA	56
4. OBJETIVOS	58
4.1. Objetivos generales.....	58
4.2. Objetivos específicos.....	58
5. MATERIAL Y MÉTODOS	60
5.1. Área de estudio	60
5.2. Periodo de estudio	64
5.3. Procesamiento de muestras	64
5.3.1. Toma de muestras	64
5.3.2. Análisis y recuento de muestras	67
5.4. Tipos analizados	69
5.5. Datos meteorológicos.....	70
5.6. Inventario y georreferenciación de la flora urbana	71
5.7. Seguimiento fenológico	71
5.8. Modelos de dispersión	76
5.9. Análisis estadístico.....	76
6. RESULTADOS	78
6.1. Capítulo I.....	82
6.2. Capítulo II	98
6.3. Capítulo III.....	120
7. DISCUSIÓN	134
8. CONCLUSIONES.....	156
9. BIBLIOGRAFÍA.....	160
10. ANEXO.....	184
10.1. Índice de figuras	184
10.2. Índice de tablas.....	185

1. Resumen

Las partículas aerovagantes dispersadas en el aire pueden suponer un problema de salud pública debido a la patogenicidad o a la alergenidad de algunos tipos en humanos y animales. En las últimas décadas se ha puesto de manifiesto un incremento global de las enfermedades alérgicas ocasionadas por los granos de polen, que sólo representan una pequeña fracción de la cantidad total de las partículas biológicas presentes en el aire. Sin embargo, algunos tipos de polen son aeroalérgenos muy importantes en la atmósfera. Estas partículas son recogidas mediante captadores volumétricos que permiten analizar su comportamiento en la atmósfera, considerando la influencia de los factores meteorológicos y la vegetación local.

En esta Tesis Doctoral se ha estudiado la concentración de granos de polen presentes en el aire de la ciudad de Badajoz (SO Península Ibérica) desde la primavera de 2015 (20 de marzo) al verano de 2019 (20 de septiembre). Aunque se identificaron y contabilizaron todos los tipos polínicos presentes en las muestras del aire (37 tipos polínicos diferentes), se analizó con más detalle los tipos polínicos *Fraxinus*, Cupressaceae y *Olea*. Con motivo de conocer su comportamiento fenológico se han estudiado ejemplares de *Fraxinus angustifolia*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus macrocarpa*, *Cupressus sempervirens*, *Platycladus orientalis* y *Olea europaea*, eligiendo la fecha de inicio del seguimiento fenológico con base a la fecha de floración del año anterior. Se identificaron, cuantificaron y georreferenciaron las fuentes de vegetación urbanas emisoras de los tipos polínicos objeto de estudio. La investigación del contenido polínico se llevó a cabo utilizando un captador volumétrico tipo Hirst situado en la Escuela de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Extremadura. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico y se analizaron la concentración diaria, la concentración horaria promedio y las correlaciones diarias y horarias con la meteorología, además de comparar y analizar la coincidencia de las concentraciones polínicas diarias con las observaciones fenológicas para estudiar la variabilidad espaciotemporal.

Para *Fraxinus*, Cupressaceae y *Olea*, se registraron integrales estacionales de polen promedio de 566 granos de polen*día/m³, 3501 granos de polen*día/m³ y 9835

granos de polen* $\text{día}/\text{m}^3$, respectivamente. En cuanto a los valores horarios de concentración de polen en la atmósfera alcanzaron su punto máximo por la tarde (13:00 a 18:00), observándose los niveles más bajos durante toda la noche o primeras horas de la mañana (22:00 a 09:00). Se obtuvieron correlaciones positivas estadísticamente significativas mayoritariamente con la temperatura media, temperatura máxima y dirección del viento, y negativas con la precipitación y humedad relativa.

El promedio de la duración de la floración para los individuos estudiados fue de 29 días para *Fraxinus angustifolia*, 29 días para *Olea europaea* y 38 días para Cupressaceae.

No siempre se registró una coincidencia ente los picos máximos fenológicos con los picos máximos de concentración polínica. De manera general este hecho puede ser atribuido a factores influyentes como la precipitación, la humedad relativa y la dirección del viento. Para *Fraxinus angustifolia*, los factores influyentes en la divergencia entre picos fenológicos y picos polínicos se encuentran en la ubicación de las fuentes de origen, la precipitación y un método de muestreo con limitaciones en capas altas del árbol. Para la familia Cupressaceae son pocos los casos de no coincidencia, pero cuando estos se presentan se deben principalmente a la influencia de la precipitación, la humedad relativa y al efecto retardador en la liberación del polen pese a que este se encontrara ya disponible en los estróbilos, así como la influencia de la ubicación del captador. Los casos de no coincidencia de *Olea europaea* se pueden atribuir al transporte de larga distancia y la influencia de la humedad relativa.

1.1 Abstract

Airborne particles dispersed in the air are a public health problem due to the pathogenicity or allergenicity that they cause in humans and animals. In the last decades, a global increase in allergic diseases provoked mainly by pollen grains has been revealed. Pollen grains only represent a small fraction of the total amount of biological particles present in the air. However, some pollen types are the most important aeroallergens in the atmosphere. These airborne particles of biological origin are collected using volumetric traps that allow the analysis of the behavior of said particles in the atmosphere, considering the influence of meteorological factors and local vegetation.

This Doctoral Thesis has studied the concentration of airborne pollen grains in the city of Badajoz (SW Iberian Peninsula) from spring 2015 (March 20th) to summer 2019 (September 20th), mainly analyzing the pollen types of *Fraxinus*, Cupressaceae and *Olea*. Although all the pollen types present in the air samples were identified and accounted (37 different pollen types), *Fraxinus*, Cupressaceae and *Olea* were analyzed in greater detail. To know its phenological behavior, specimens of *Fraxinus angustifolia*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus macrocarpa*, *Cupressus sempervirens*, *Platycladus orientalis* and *Olea europaea* have been studied, choosing the start date for phenological monitoring based on the flowering start date in the previous year. The urban vegetation sources emitting those pollen types under study were identified, quantified and georeferenced. The research was carried out by using a Hirst volumetric trap located at the School of Agricultural Engineering of the University of Extremadura. The occurrence or absence of matches between daily pollen concentration with phenological observations to study spatio-temporal variability were analyzed. Moreover, results obtained were subjected to a statistical analysis and average daily and hourly pollen concentrations were analyzed and compared with daily and hourly meteorological data.

For *Fraxinus*, Cupressaceae and *Olea*, were recorded average Seasonal Pollen Integrals (SPIn) of 566 pollen*day/m³, 3501 pollen*day/m³ and 9835 pollen*day/m³, respectively. As for the hourly values of pollen concentration in the atmosphere, they

reached their maximum point in the afternoon (13:00 to 18:00), with the lowest levels being observed throughout the night or early morning (22:00 to 09:00). Statistically significant positive correlations were obtained mainly with the mean temperature, maximum temperature and wind direction, and negative with precipitation and relative humidity.

The average duration of flowering for the individuals studied was 29 days for *Fraxinus angustifolia*, 29 days for *Olea europaea* and 38 days for Cupressaceae.

A coincidence between the maximum phenological peaks and the maximum pollen peaks was not always recorded. In general, this fact can be attributed to influencing factors such as precipitation, relative humidity, and wind direction. For *Fraxinus angustifolia*, the influencing factors in the divergence between phenological peaks and pollen peaks are found in the location of sources of origin, precipitation, and a sampling method with limitations in upper tree layers. For the Cupressaceae family, there are few cases of non-coincidence, but when they occur, they were mainly due to the influence of precipitation, relative humidity and the retarding effect on pollen release, despite the fact that it was already available in strobili, as well as the influence of the location of the pollen trap. Cases of non-coincidence of *Olea europaea* can be attributed to long-distance transport and the influence of relative humidity.

2. Introducción

2.1. Definición, orígenes e importancia de la Aerobiología

La Aerobiología es una disciplina científica que ha adquirido gran importancia en las últimas décadas, empezando a tomar fuerza en la década de los años 40 durante la celebración del *Symposium on extramural and intramural Aerobiology* (Moulton, 1942). La Botánica integra a la Aerobiología como disciplina responsable del estudio de las partículas con origen biológico presentes en la atmósfera. En un sentido más específico, esta disciplina se aplica a los estudios de partículas aerovagantes de origen biológico, considerando aspectos como la formación, dispersión, deposición y diversidad. También, se consideran las concentraciones con las que se encuentran en las distintas épocas del año y de su impacto sobre el medio y los organismos (Edmonds & Benninghoff, 1973; Frenguelli, 1998).

El término Aerobiología fue acuñado por el estadounidense Fred Meier en la década de 1930 para referirse a la disciplina que se encarga del estudio de las estructuras aerotransportadas procedentes de organismos vivos. En esa misma época, Hirst (1952) diseñó un captador volumétrico para conocer las oscilaciones horarias y diarias de las partículas aerovagantes. Gregory (1973) señaló que la Aerobiología incluía el estudio de las partículas aerovagantes viables y no viables transportadas pasivamente por el viento bajo la influencia de las propiedades atmosféricas. Pathirane (1975) consideró a la Aerobiología como una ciencia multidisciplinaria que comprende la liberación, retención, dispersión, deposición e incidencia ambiental de los organismos y partículas biológicas en la atmósfera, así como su repercusión en el entorno; teniendo como principal objeto de estudio el polen y las esporas fúngicas. También se incluye el estudio de bacterias, algas microscópicas, pequeñas semillas, fragmentos de micelios y líquenes.

La Aerobiología como ciencia multidisciplinar se apoya en disciplinas como la Alergología, Climatología, Teledetección y Meteorología, entre otras. Dentro de los campos de aplicación se encuentran disciplinas como la Agricultura, Silvicultura, Ciencia Forense y especialmente la Medicina (Edmonds & Benninghoff, 1973) a la que ha estado fuertemente ligada desde su origen debido a que una proporción

significativa de polen y esporas están relacionados con la salud de los seres humanos y animales (Turk, 1991). Un ejemplo es la polinosis (alergia al polen), también conocida como fiebre del heno, término introducido por Bostock en 1819, que describía una enfermedad estacional aparecida, principalmente, junto con la floración de las gramíneas (Sáñez, 1978). Se ha demostrado que los granos de polen y esporas son capaces de transportar sobre su superficie algunas partículas inorgánicas como plomo, mercurio, asbesto y cadmio, e incluso endotoxinas (Oteros *et al.*, 2019). Estas partículas pueden influir en la forma, la estructura y viabilidad de los granos de polen y esporas, así como modificar sus proteínas (Nilsson, 1992; Recio, 1999).

Durante las últimas tres décadas, la Aerobiología ha experimentado una evolución en la que sus estudios se han visto reforzados por la incorporación de datos fenológicos (Frenguelli *et al.* 1989; Sáenz *et al.* 2003; Estrella *et al.* 2006; Tormo-Molina *et al.* 2011; Burns *et al.* 2013; Aguilera *et al.* 2015a; Tormo-Molina *et al.* 2015; Monroy-Colín *et al.* 2018; Monroy-Colín *et al.* 2020a; Monroy-Colín *et al.* 2020b), biogeográficos (Draxler & Hess, 1998; Galán *et al.* 2001a; Skjøth *et al.* 2003; Smith *et al.* 2014; Aguilera *et al.* 2015; Rojo *et al.* 2016; Fernández-Rodríguez *et al.* 2016; Maya-Manzano *et al.* 2017a; Maya-Manzano *et al.* 2017b; Fernández-Rodríguez *et al.* 2018; Pecero-Casimiro *et al.* 2019) o epidemiológicos (Knox 1993; Hemmer *et al.* 2000; Díaz de la Guardia *et al.* 2006; D'Amato *et al.* 2007; Heinzerling *et al.* 2009; Cariñanos *et al.* 2014; Salmond *et al.* 2016), que ayudan a conocer la dispersión de las partículas aerovagantes y su repercusión en la salud pública.

El interés creciente por los estudios aerobiológicos, unido a las diversas aplicaciones de sus resultados, ha facilitado una rápida expansión de la Aerobiología. En España, en 1992 se creó la *Red Española de Aerobiología* (REA), integrada por numerosos especialistas con gran experiencia en el campo de esta disciplina y con reconocimiento a nivel internacional. Los objetivos de la REA son crear una base común de datos aerobiológicos, así como difundir la información generada sobre la presencia, abundancia y predicción de los tipos polínicos más relevantes de cara a la sociedad y organismos sanitarios (Galán *et al.*, 2007). A nivel internacional, en 1988 se creó la *European Aeroallergen Network* (EAN) como una base de datos de esporas de hongos y granos de polen procedentes de distintos sitios de muestreo de toda

Europa. Dicha red es administrada por la *Aerobiology and pollen information research unit* del departamento de Otorrinolaringología de la Universidad Médica de Viena (EAN, 2015). Actualmente la red está presente en 38 países y con más de 600 sitios de muestreo, evaluándose más de 226 tipos de partículas aerobiológicas diferentes y relevantes para organismos sanitarios y para la sociedad. Más recientemente, en 2008, se creó la *European Aerobiology Society* (EAS) con la finalidad de promover la Aerobiología y su desarrollo, así como facilitar la colaboración, investigación, educación, información, desarrollo técnico y la aplicación práctica en el campo de la Aerobiología. Por otra parte, la EAS tiene como objetivo ofrecer a todas las personas y asociaciones activas o interesadas en el campo de la Aerobiología una plataforma común para apoyar iniciativas y proyectos a nivel europeo (EAS, 2020).

La REA se ha conformado como una red académica integrada por docentes e investigadores con una alta cualificación en temas relacionados con la Botánica, Micología, Palinología y la dinámica de la atmósfera (Galán *et. al.*, 2007). Desde la constitución de la *Asociación Española de Aerobiología* (AEA) en 1995, la REA figura como una red técnica dentro de dicha asociación. Actualmente cuenta con más de 47 unidades de muestreo aerobiológico homologadas en España, cinco de ellas están presentes en Extremadura (Badajoz, Cáceres, Plasencia, Don Benito y Zafra). El estudio de estas unidades de muestreo aerobiológico es llevado a cabo por la Universidad de Extremadura, a través de la Red Extremeña de Aerobiología que lleva en funcionamiento desde 1993 iniciando el monitoreo en la ciudad de Badajoz (Silva-Palacios *et. al.*, 2016a).

La AEA pretende ser el marco en el que tengan cabida todas aquellas personas que desarrollan su labor en cualquiera de las disciplinas como la Aeromicología, Aerobacteriología, Biometeorología, Biodeterioro, etc., con la finalidad de compartir resultados, experiencias y sumar esfuerzos que contribuyan eficazmente al desarrollo de los estudios de Aerobiología y de forma general de la Botánica en España. Recientemente la AEA, junto a la Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas (SEBiCoP), la Sociedad Española de Briología (SEB), la Sociedad Española de Geobotánica (SEG) y la Asociación de Palinólogos de Lengua Española (APLE), forma parte de la *Sociedad Botánica Española* (SEBOT) creada para fortalecer los estudios dentro de la Botánica. La EAS, en coordinación con la *International*

Association for Aerobiology (IAA), gestiona los problemas que se plantean en los muestreos, análisis, controles de calidad, estandarización, desarrollo e información aerobiológica a nivel internacional.

Existe un evidente interés de la ciudadanía por conocer la información de polen y esporas en el aire debido al aumento constante de las afecciones alérgicas en la población originadas por pólenes y esporas aerovagantes (Silva-Palacios *et. al.*, 2016a). De esta manera, además de la distribución de la información aerobiológica a especialistas en alergia y redes de investigación, la Red Extremeña de Aerobiología mantiene una constante difusión de dicha información a través de medios de comunicación, internet y redes sociales, facilitando la disponibilidad a través de sitios web, mensajería “short message service” (SMS), en menor medida a través de las redes sociales más extendidas como Facebook® y Twitter® (Silva-Palacios *et. al.*, 2016a), y recientemente a través de una aplicación móvil (AeroUEX), siendo una herramienta importante para suministrar información aerobiológica a la ciudadanía.

A nivel europeo, la Directiva 2008/50/CE, de 21 de mayo de 2008 introdujo regulaciones para nuevos contaminantes o partículas presentes en la atmósfera, como las partículas de tamaño inferior a 2,5 μm , conocidas como PM_{2,5}, así como nuevos requisitos en cuanto a la evaluación y los objetivos de calidad del aire, teniendo en cuenta las normas, directrices y los programas correspondientes a la Organización Mundial de la Salud (MITECO, 2018). Esta misma Directiva, considera a los granos de polen, las esporas de hongos, los virus, las bacterias y restos de material vegetal como partículas biológicas primarias (PBAP's, por sus siglas en inglés).

Los granos de polen y las esporas de hongos pueden estar presentes en la atmósfera en grandes cantidades y la distribución espacial de los PBAP's depende en gran medida de las condiciones del transporte atmosférico. De esta manera no existe una tendencia estacional de manera general, pero sí de forma individual, por ejemplo, en el caso del polen primaveral (SEC, 2011). Además, esta Directiva establece que los granos de polen pueden alcanzar los 30 μm de tamaño haciendo referencia que la cantidad de granos de polen presentes en la categoría de partículas con diámetro aproximado de 10 μm (PM₁₀) es muy limitado (5%) y sin cambios en su composición química al momento de liberarse a la atmósfera (SEC, 2011). En algunos Estados de la Unión Europea, los granos de polen y las esporas de hongos se consideran

contaminantes atmosféricos igual que otras partículas suspendidas en el aire (PM₁₀ o PM_{2,5}). En España, el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO) considera que las partículas (PM) presentes en la atmósfera están integradas por una mezcla heterogénea y compleja de sustancias orgánicas e inorgánicas de tamaño y composición química muy variable; sólidas y/o líquidas, de origen tanto natural como antropogénico. Los granos de polen y las esporas de hongos son clasificados dentro de las PM de origen primario y en la categoría de PM_{2,5}, considerándose dicha categoría de gran importancia debido a que estas partículas pueden ser inhaladas y penetrar así en el sistema respiratorio; incluso pueden alcanzar los alveolos pulmonares, lo que les permite de este modo llevar sustancias nocivas a zonas muy sensibles y agravar patologías que pueden conducir incluso a una muerte prematura (MITECO, 2020).

La normativa estatal española sobre calidad del aire contempla la Ley 34/2007, de 15 de noviembre de 2017 sobre de calidad del aire y protección de la atmósfera, donde se actualiza la base legal para los desarrollos relacionados con la evaluación y la gestión de la calidad del aire en España, teniendo como fin último el de alcanzar unos niveles óptimos de calidad del aire para evitar, prevenir o reducir riesgos o efectos negativos sobre la salud humana, el ambiente y demás bienes de cualquier naturaleza (MITECO, 2018).

El Índice Nacional de Calidad del aire fue aprobado el 18 de marzo de 2019 dentro de la Orden TEC/351/2019. Siguiendo las directrices del índice europeo *Air Quality Index*, puesto en marcha en noviembre de 2017 por la Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA) y la Comisión Europea, se permite a los usuarios comprobar la calidad actual del aire en ciudades y regiones de toda Europa (MITECO, 2018). El Índice Nacional ayuda a representar la calidad del aire a nivel nacional de una manera fácilmente entendible por los ciudadanos, por lo que contribuye al acceso del público a dicha información ambiental de una manera clara (MITECO, 2018). Dicho índice está basado en los datos en tiempo real que las redes de evaluación de la calidad del aire envían oficialmente al MITECO, para cinco contaminantes: partículas en suspensión (PM₁₀ y PM_{2,5}), ozono troposférico (O₃), dióxido de nitrógeno (NO₂) y dióxido de azufre (SO₂) (MITECO, 2018). Para completar el índice de calidad con información de origen orgánico, actualmente, desde la Asociación Española de

Aerobiología se está trabajando con el Ministerio de Sanidad del Gobierno de España para la inclusión del contenido aerobiológico en el protocolo de vigilancia ambiental.

2.2. Grano de polen

La palabra polen proviene del latín *pollen-inis*, que significa “polvo muy fino” o “la flor de la harina”. Fue utilizada por primera vez por Linneo y por Cavanilles en algunos de sus trabajos (Trigo *et. al.*, 2008). Los granos de polen son las células sexuales masculinas de las plantas con semilla. Se originan en los microsporangios o sacos polínicos en el interior de las anteras en el caso de las plantas con flores, produciéndose como consecuencia de un fenómeno de meiosis. Una vez maduros son liberados al medio. Su función biológica es la de transportar en su interior al gameto masculino y alcanzar al óvulo de la misma especie, para poder llevar a cabo la fecundación de la ovocélula.

Francis Bauer realizó los primeros dibujos del polen de 181 plantas (William, 1789; Lindley, 1830; Hooker & Bauer, 1842; Lastra, 2001). Purkinje (1830) estudió el tejido de los sacos polínicos y la estructura del grano de polen, pero fue Fritzche quien diferenció y asignó el nombre de las partes de que consta la cubierta del grano de polen: la exina y la intina (Lastra, 2001).

La intina está constituida principalmente por celulosa y pectina que le permite hidratarse y aumentar su tamaño (Trigo *et. al.*, 2008), mientras que la exina está constituida principalmente por esporopolenina, sustancia muy resistente a ácidos y bases. No se ve afectada por las variaciones térmicas, lo que resulta muy favorecedor debido a las condiciones ambientales a las que se exponen los granos de polen (Belmonte, 1988). La exina presenta una estructura un tanto particular. Desde el punto de vista químico se puede distinguir en endexina y ectexina (Trigo *et. al.*, 2008), y morfológicamente se pueden distinguir dos capas: la nexina y la sexina. La primera con una morfología homogénea y la segunda con unos pilares alargados que en conjunto constituyen el infratectum sobre el cual se dispone una parte más o menos engrosada que constituye el téctum (**Fig. 1**). Este frecuentemente presenta una serie de elementos que constituye la ornamentación del grano de polen.

Los granos de polen presentan proteínas que son capaces de disparar el sistema inmunológico de gran parte de la población humana, aproximadamente un 15% de la

población en España, incrementándose hasta en un 30% en personas jóvenes (MSCBS, 2019). La exposición al alérgeno en un individuo susceptible conduce a la sensibilización, que supone la producción de anticuerpos IgE específicos frente a ese antígeno (Puiggròs, 2012).

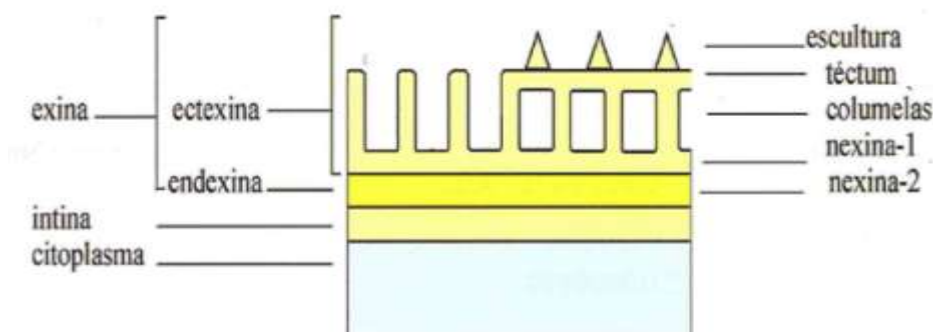


Figura 1. Capas de esporodermis mediante corte transversal.
Tomado y modificado de Trigo *et. al.* (2008).

La sensibilización a proteínas extrañas en el ambiente está presente en hasta un 40% de la población, y según la *World Allergy Organization* (WAO), esta sensibilización se asocia fuertemente con la exposición a proteínas derivadas de polen, hongos, ácaros del polvo y cucarachas. Durante la dehiscencia de las anteras y la liberación al medio, los granos de polen sufren una deshidratación rápida que reduce su volumen hasta en un 35% y, cuando llegan a un estigma receptor o a un medio húmedo, como puede ser la mucosa de las personas sensibles, experimentan una hidratación considerable (Suárez-Cervera & Seoane-Camba, 2004). Al hidratarse, se producen una serie de cambios metabólicos y modificaciones estructurales que culminan en la liberación de un exudado que contiene lípidos, proteínas y enzimas para la formación del tubo polínico. La mayoría de estas proteínas que intervienen en el proceso germinativo son también las responsables de la respuesta alérgica de las personas sensibles (Suárez-Cervera & Seoane-Camba, 2004; Puiggròs, 2012).

En el contexto del estudio de la alergia, los granos de polen han sido valorados únicamente como transportadores de alérgenos; sin embargo, los extractos acuosos de polen contienen un gran número de sustancias con potencial capacidad inmunomoduladora. Se ha demostrado que el polen, bajo condiciones fisiológicas de exposición, no sólo libera alérgenos si no también lípidos bioactivos que activan *in*

vitro leucocitos del tipo neutrófilos y eosinófilos (Traidl-Hoffmann *et. al.* 2002; Plotz *et. al.* 2004); estos últimos son los encargados de responder a las reacciones alérgicas, mediante la neutralización de la histamina (generando histaminasa) además de que son capaces de evitar la degranulación de los mastocitos o basófilos que contienen sustancias vasoactivas y son los responsables de la sintomatología del paciente alérgico. (Castells, 1997).

2.2.1. Características

La fecundación es una fase fundamental del ciclo biológico de las plantas superiores y a esta función reproductiva se le une la que tiene el grano de polen como reservorio del material genético durante el transporte por un medio “hostil” como es el aire. Esto contribuye a que la morfología de la cubierta de los granos de polen resulte de gran complejidad desde el punto de vista morfológico y estructural. Así, se puede diferenciar una gran cantidad de caracteres morfológicos que permiten su reconocimiento al microscopio. Dicha diversidad morfológica es muy amplia y depende de los diferentes grupos de plantas o taxones. Se dice que un grupo de plantas es europalino cuando presenta una gran diversidad morfológica en cuanto a tipos polínicos. Por otra parte, es estenopalino cuando los tipos polínicos presentan cierta uniformidad (Trigo *et. al.* 2008).

Cuando están formados los granos de polen, lo más habitual es que se liberen de forma independiente, recibiendo el nombre de mónadas. Sin embargo, existen diversos grupos taxonómicos que liberan granos de polen en grupos de dos (diadas), de cuatro (tétradas) o incluso en agrupaciones mayores (poliadas) que, en algunas ocasiones, puede ser toda la masa de granos de polen formados en la antera, constituyendo así las polinias (Trigo *et. al.* 2008; Sáenz 2004).

La polaridad va a estar determinada por la orientación de las micrósporas en la tétrada meiótica. Cuando se forma la tétrada y los granos de polen aún no se independizan, pudiéndose distinguir dos polos; el polo proximal que es el que esté más cerca del centro de la tétrada y, el polo distal que es el que se encuentre en el extremo opuesto. Si se trazara una línea imaginaria que uniera los dos polos, se obtendría el eje polar y trazando la perpendicular al eje polar, en el punto de mayor anchura, se encuentra el eje ecuatorial. Cuando los dos polos son iguales en forma y tamaño se

dice que el grano de polen es isopolar; por el contrario, si son diferentes en forma y/o tamaño es heteropolar, y en caso de no ser posible definir la polaridad del grano de polen es apolar (Trigo *et. al.* 2008; De Castro *et. al.* 2004).

La simetría del grano de polen se va a definir siempre en vista polar, estando determinada por el número de planos verticales de simetría que existen si los ejes ecuatoriales son de igual longitud o no y por la presencia o ausencia de aperturas. Un grano de polen es radiosimétrico si presenta tres o más planos de simetría; si sólo presenta dos planos de simetría se indica como bisimétrico. Es asimétrico cuando no hay plano de simetría, generalmente debido a la disposición de las aperturas (Trigo *et. al.* 2008; De Castro *et. al.* 2004).

La forma estará directamente relacionada con el tipo de apertura, polaridad y simetría, pudiendo establecerse en vista polar y corte óptico ecuatorial o en vista ecuatorial y corte óptico meridiano. A su vez, la forma puede describirse en función de la figura geométrica a la que se asemeje: circular, triangular, elíptico, etc. Otra característica usada para definir la forma es la relación entre el eje Polar (P) y el Ecuatorial (E), P/E. Esta relación ha permitido establecer diferente terminología (**Tabla 1**) dada por diferentes autores, siendo la más aceptada la de Erdtman de 1952 (Reitsma, 1970; Van Campo 1957). Esta relación también definirá el tamaño; en 1952 Erdtman propone las siguientes categorías: muy pequeños ($<10\ \mu\text{m}$), pequeños ($10\text{-}25\ \mu\text{m}$), medianos ($25\text{-}50\ \mu\text{m}$), grandes ($50\text{-}100\ \mu\text{m}$), muy grandes ($100\text{-}200\ \mu\text{m}$) y gigantes ($>200\ \mu\text{m}$).

Tabla 1. Terminología usada por diferentes autores para describir la forma de los granos de polen.

Erdtman (1952)	Van Campo (1957)	Reitsma (1970)
Perprolado >2	Longiaxo >1	Erecto >1
Prolado 1,33-2	Equiaxo =1	Adecuado =1
Subprolado 1,14-1,33	Breviatio <1	Transverso <1
Prolado-esferoidal 1-1,14		
Esferoidal =1		
Oblado-esferoidal 0,88-1		
Suboblado 0,75-0,88		
Oblado 0,50-0,75		
Peroblado $<0,5$		

Tomado y modificado de Trigo *et. al.* (2008).

La ornamentación está determinada por un conjunto de características dadas por el tectum y los elementos suprategatales (Pragowski & Punt, 1973), adoptando diversas formas (**Fig. 2**). Hay que indicar que no suelen sobrepasar los 5 μm de altura con adaptaciones a los procesos de dispersión y polinización (De Castro *et. al.* 2004).

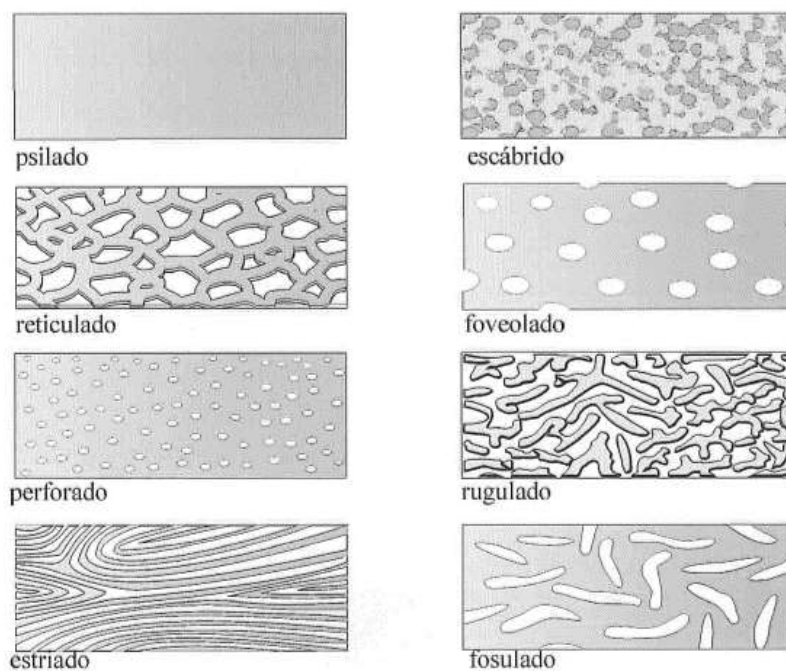


Figura 2. Elementos suprategatales y vista en superficie de las diversas organizaciones del tectum. Tomado y modificado de Trigo *et. al.* (2008).

El sistema apertural está conformado por adelgazamientos o interrupciones de la exina, mientras que, en algunas ocasiones, la intina suele ser más gruesa (Pragowski & Punt, 1973; De Castro *et. al.* 2004). Además de controlar el intercambio iónico con el exterior, en estas aperturas se desarrollará el tubo polínico durante la fecundación (Pragowski & Punt, 1973; Trigo *et. al.* 2008). Existen granos de polen sin una apertura definida (inaperturados) en la que la exina es demasiado delgada, pudiendo llegar a romperse al desarrollarse el tubo polínico.

La descripción de las aperturas se basa en cuatro características básicas: el número, la forma, la posición y la estructura (De Castro *et. al.* 2004). En el caso del número de aperturas es muy variable, pudiendo ser inaperturados o mono-, di-, tri- o poli- cuando pasa de las cuatro aperturas. En cuanto a la forma, se distinguen tres formas básicas; colpo si la relación longitud (zona ecuatorial)/anchura es mayor a 2;

poro si la relación longitud (zona ecuatorial)/anchura es menor a 2 y sulco si aparece una abertura alargada y dispuesta perpendicularmente al eje polar (De Castro *et. al.* 2004; Trigo *et. al.* 2008). En cuanto a la posición de las aperturas va a depender del desarrollo de la tétrada meiótica, pudiéndose diferenciar en polar y ecuatorial. Por último, la estructura está relacionada con las ectoaperturas si sólo se afecta la ectexina y de endoaperturas si sólo se afecta la endexina (De Castro *et. al.* 2004; Trigo *et. al.* 2008).

2.2. Procesos aerobiológicos

Se entiende por proceso aerobiológico a todos aquellos procesos que siguen los granos de polen, las esporas y otras partículas desde que se forman en las estructuras parentales (producción), su liberación, dispersión en la atmósfera transportados a través del aire hasta que se sedimentan o impactan, pudiendo causar incidencia ambiental (Nilsson, 1992; Mandrioli *et. al.*, 1998) (**Fig. 3**).

La fuente emisora es aquella que produce las partículas biológicas con el objetivo de reproducción, dispersión o mantenimiento de la supervivencia de las especies, utilizando como medio de transporte el viento. Las fuentes de origen biótico se localizan en cualquier lugar que exista actividad biológica y movimiento de aire, por lo que la mayor parte de la superficie terrestre puede ser considerada una fuente potencial. Según Nilsson (1992), la fuente productora de partículas aerovagantes puede ser puntual, lineal o areal, dependiendo de la escala.

De esta manera, en el caso del polen, una antera puede ser una fuente puntual, mientras que un bosque se considera un área potencial significativa. Determinar el origen de una emisión es complejo. En el caso del polen las fuentes muestran una marcada estacionalidad siendo relativamente fáciles de identificar. Sin embargo, en el caso de los hongos o las bacterias, la fuente emisora puede estar constituida por subunidades esparcidas por todo el territorio (Alba *et. al.*, 2010). La capacidad de producción de los distintos organismos, la proximidad y abundancia de la fuente de emisión son tres factores de gran importancia en el estudio aerobiológico (Tormo *et. al.*, 1996). De esta misma manera los granos de polen y un gran número de esporas responden a una estacionalidad debido a la propia fisiología de las plantas y hongos.

De manera general, la concentración de esporas de hongos en el aire es generalmente bastante más elevada que la de granos de polen (Sterling *et. al.*, 1999).

La liberación es el proceso mediante el cual las partículas biológicas pasan desde la fuente productora hasta la atmósfera. En esta fase intervienen los fenómenos fisiológicos de las plantas y hongos, así como los factores ambientales; siendo de mayor importancia las corrientes de aire (Ingold, 1999). En ocasiones son esenciales los mecanismos del tipo “catapulta” provocados por variaciones en la temperatura o la humedad. Por consiguiente, muchas veces las concentraciones de las partículas aerovagantes varían a lo largo del día (Tormo *et. al.* 1996; Ingold, 1999). En cuanto al polen, proviene en mayor proporción de especies anemófilas, presentando estambres con filamentos largos, anteras versátiles y una elevada producción de polen. Igualmente, el propio polen es de tamaño reducido y sin el típico cemento polínico de las plantas entomófilas. Además del viento, la humedad relativa es de gran importancia para la liberación de los granos de polen, ya que una humedad relativa baja favorece la dehiscencia de las anteras (Gregory, 1973; Nilson, 1992).

El transporte y dispersión de las partículas están íntimamente ligados con los factores meteorológicos. Por esta razón, depende en gran medida de los movimientos de las masas de aire, las turbulencias, la precipitación y las convecciones térmicas (Alba, 1997; Monroy-Colín *et. al.*, 2018). Así mismo va a depender de las características físicas del polen y esporas, como tamaño, forma, densidad y en el caso del polen, la aerodinámica del grano de polen. Según la ley de Stokes, el tiempo que las partículas se mantienen suspendidas en el aire es inversamente proporcional a su tamaño.

Algunos granos de polen pueden recorrer distancias considerables desde la fuente emisora estando relacionado el transporte con grandes movimientos de masas de aire (Monroy-Colín *et. al.* 2020a), existiendo granos de polen como el del maíz que no se dispersa más allá de los 500 m de la fuente emisora. Rantio-Lehtimäki (1994) distingue tres tipos de transporte en función de la distancia que recorren: corta distancia (hasta 1 km), media distancia (entre 1 y 100 km) y larga distancia (más de 100 km). Generalmente, la concentración de partículas aerovagantes alcanzada en el aire mostrará un descenso con el incremento de la distancia a la fuente de liberación, aunque también se puede producir un transporte a larga distancia (Skjøth *et. al.*, 2007).

La deposición o sedimentación de las partículas aerovagantes se va a producir cuando la fuerza de la gravedad es superior a la intensidad del viento, especialmente para partículas con un tamaño entre 10 y 50 μm . En otros casos, durante el transporte y debido a la dirección del viento, las partículas se pueden depositar en diversos sustratos como el agua, techos de casas o vegetación entre otros (Nilsson, 1992). De esta misma manera, la lluvia produce un efecto de lavado en la atmósfera arrastrando las partículas aerovagantes, denominado como deposición húmeda (Nilsson, 1992). El polen, en medios húmedos se hace más pesado y sedimenta con mayor facilidad (Emerbil, 1995). Del mismo modo, en condiciones de sequedad se hace menos denso y permanece más tiempo en la atmósfera. Con frecuencia algunos granos de polen alcanzan los receptores femeninos para llegar a la ovocélula y llevarse a cabo la fecundación (Emerbil, 1995).

Posterior a la deposición de las partículas aerovagantes se puede producir la resuspensión, pudiendo volver a la atmósfera por fenómenos de resuspensión mediante la acción de corrientes atmosféricas, las turbulencias o la acción antrópica, repitiéndose los procesos de dispersión y deposición. Existen estudios en algunas especies de gramíneas, cupresáceas y del olivo donde se han detectado retrasos o anticipaciones de hasta una semana entre la presencia del polen en el aire de especies alergénicas y su época de floración (Monroy-Colín, *et. al.*, 2020a; Tormo, *et. al.*, 2011; Zerboni & Mandrefi, 1988).

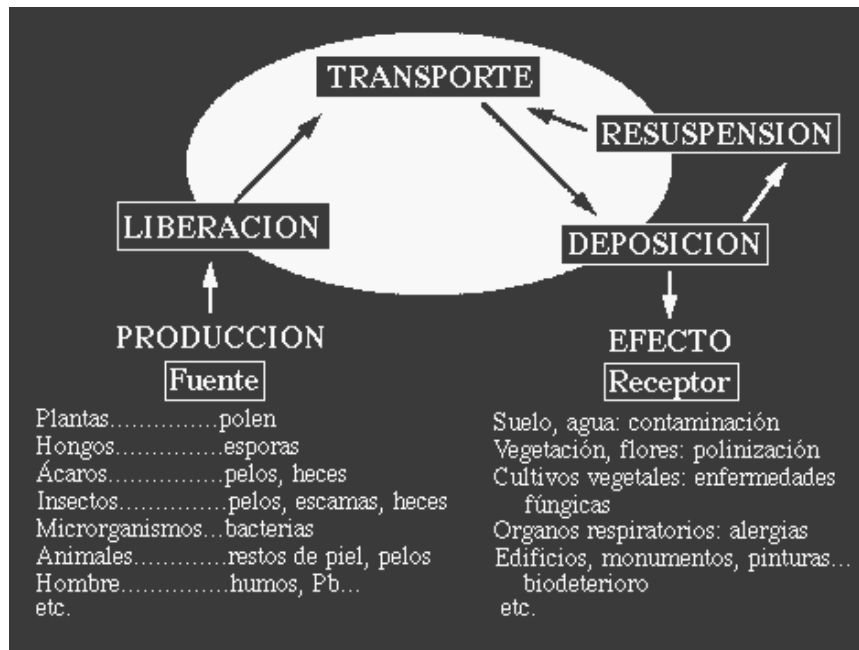


Figura 3. Esquema de los procesos aerobiológicos.
Tomado y modificado de Recio & Toro (1997)

2.3. Métodos de muestreo en Aerobiología

Se han diseñado diversos métodos e instrumentos para realizar el muestreo del contenido biológico del aire, basándose en diversos principios físicos como la impactación, la filtración, la succión o la deposición gravitacional (Mandrioli *et. al.*, 1998). Cada uno de ellos presenta características diferentes que lo hacen más o menos apropiado en función del objeto de estudio. Los métodos de captación deben ser eficientes en la captación de partículas y ser compatibles con los métodos analíticos requeridos. No existe un método universal, por lo que cada área dentro de la Aerobiología ha desarrollado métodos de muestreo propios.

Método gravimétrico. Es el método más simple basado en la exposición al aire de una superficie sobre la cual se sedimentan las partículas por gravedad. El primer muestreo en el que utilizó este método fue realizado por Blackey en 1873. Sobre este método se han realizado diversas modificaciones, por ejemplo, Darder y Durham (1936) colocaron dos portaobjetos; uno de forma horizontal y otro vertical para recoger partículas de sedimentación y partículas aerotransportadas (**Fig. 4A**). Pla Dalmau (1958) colocó el portaobjetos con una inclinación de 14° e incorporó una veleta que lo mantenía expuesto al viento predominante (**Fig. 4B**).

Método por impacto. Este tipo de métodos se basan en la inercia de las partículas aerotransportadas, ya que cuando éstas se acercan a un objeto y si tienen suficiente inercia, continuarán su trayectoria original, alcanzando el obstáculo. Para ello, se requiere una superficie de impactación muy reducida, de tal forma que, a menor superficie, mayor grado de impactación. El sistema más sencillo consiste en un pequeño cilindro cubierto de adhesivo montado en una posición fija, sobre el que incide el aire de manera directa (Mandrioli. *et. al.*, 1998). Otros mecanismos consisten en portaobjetos que giran con la ayuda de motores eléctricos, variando la exposición, controlando el flujo de aire y protegiéndolos de precipitaciones. De manera general, funcionan correctamente para muestrear el polen, pero no pueden actuar durante largos periodos de tiempo. Además, la eficacia de captación depende de la velocidad del viento, tamaño del captador y las características de las partículas (Mandrioli. *et. al.*, 1998). También suele ser importante la eficiencia de retención ya que la partícula puede rebotar o quedarse adherida.

Método por filtración. Este tipo de muestreo se basa en la selección de partículas contenidas en el aire en función de su tamaño. Para ello, se hace pasar el aire a través de una superficie fibrosa o porosa que será atravesada o no, dependiendo de su tamaño. El método original (**Fig. 4C**) que posteriormente ha sufrido modificaciones fue ideado por Cour en 1974 (Munuera, 2004). En este método el aire atraviesa un cuadrado formado por cinco capas de gasa impregnada en silicona que está montada sobre un bastidor metálico. El sistema está montado sobre un dispositivo móvil dotado de una veleta que hace que la superficie de la gasa se oriente al viento dominante y pueda capturar las partículas aerovagantes (Munuera, 2004).

Método por succión. En este tipo de muestreo se incluyen todos los captadores que, por medio de una bomba de vacío u otro sistema similar, absorben un volumen de aire conocido en cierto tiempo (**Fig. 4D**). Para retener las partículas se pueden usar métodos como la filtración, impactación, precipitación térmica u electrostática e incluso la intrusión en medio líquido. Entre los captadores de succión-impactación se encuentra el diseñado por Hirst (1952), que inicialmente fue empleado para captar esporas. Posteriormente se han realizado varias versiones hasta llegar a las

comercializadas por Burkard Co. Ltd y Lanzoni srl. Estos captadores son en la actualidad los más usados con una eficiencia de muestreo aceptable, pero varía con la velocidad del viento y con el tamaño de las partículas. Entre las ventajas se pueden destacar su simplicidad y permitir un registro continuo, lo que ha hecho que haya registros de más de 25 años de duración en algunas partes de Europa. No obstante, en los últimos años se ha discutido intensamente acerca de algunos problemas que presentan este tipo de captadores, debido a que en las concentraciones recogidas por los aparatos influye las mismas diferencias intrínsecas entre captadores (Tormo-Molina *et. al.*, 2013) y problemas con el flujo de aspiración de los aparatos (Oteros *et. al.*, 2016).

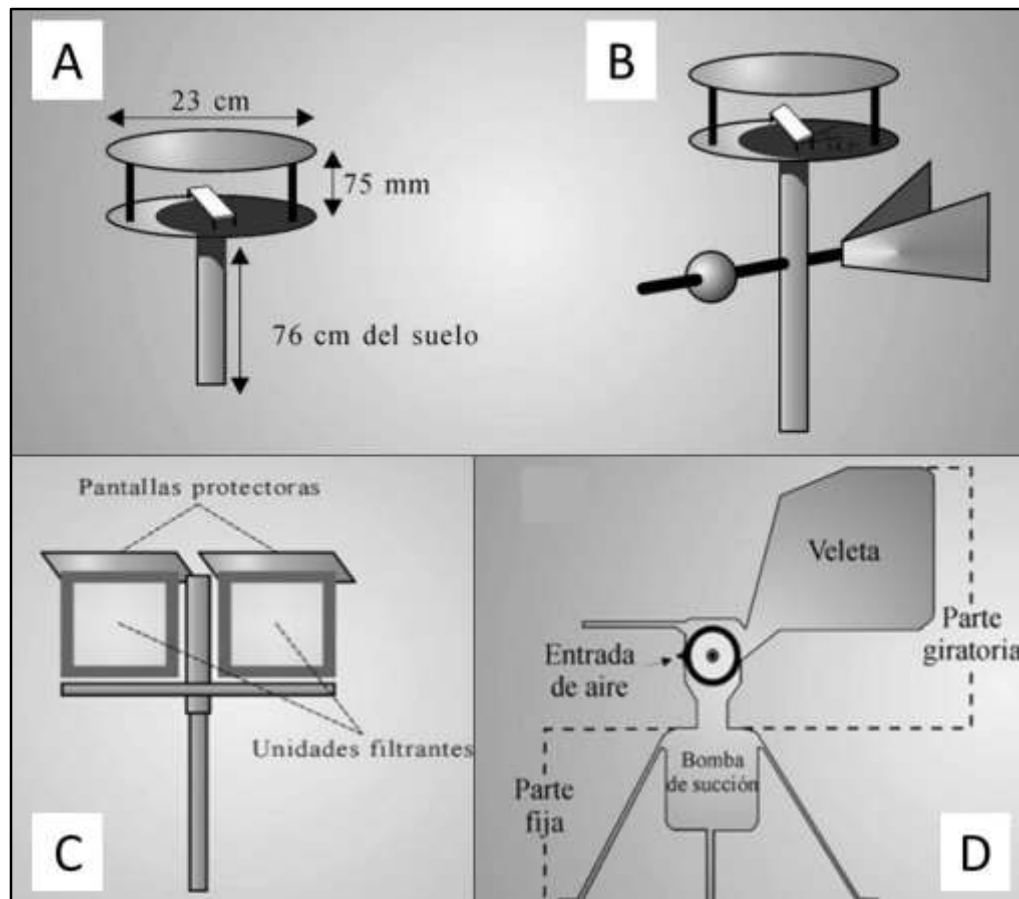


Figura 4. Esquemas de los diferentes métodos de captación de partículas.

A) Captador gravimétrico Durham. B) Captador gravimétrico Durham modificado por Pla Delmau. C) Captador Cour. D) Captador por succión Hirst. Tomado y modificado de Munuera (2004).

2.4. Factores que influyen en el contenido aerobiológico

Las bases de la Aerobiología se apoyan en conceptos integrados en la Ecología, ya que los factores que influyen en el contenido aerobiológico pueden ser clasificados en bióticos y abióticos. Entre los bióticos, para explicar la emisión polínica se pueden citar las especies que componen un área (Prieto *et. al.* 2003; Maya-Manzano *et. al.*, 2017a), su madurez (Maya-Manzano *et. al.*, 2017a), la fisiología (Basky & Magyar 2008), así como de su número de inflorescencias (Tormo-Molina *et. al.*, 1996), e incluso a la posición que ocupe dentro de dicha inflorescencia (Tormo-Molina *et. al.*, 2015). Entre los más importantes clasificados como abióticos destacan los usos del suelo (Rojo *et. al.*, 2015; Maya-Manzano *et. al.*, 2017b) y la influencia que tiene la meteorología. Analizar de forma individualizada cada uno de los parámetros meteorológicos que influyen en las partículas aerovagantes en el aire es complejo debido a que todos actúan en conjunto. La influencia de éstos varía de unos taxones a otros incluso puede variar dependiendo del estado fenológico que se encuentre el organismo emisor de partículas (McDonald, 1980; Tormo-Molina *et. al.*, 2011; Monroy-Colín *et. al.*, 2018; Monroy-Colín *et. al.*, 2020a y b). En este sentido, tiene la importancia de hacer seguimiento a los parámetros meteorológicos a lo largo de todo el año. De manera general, se puede decir que los parámetros meteorológicos actúan a dos niveles; en las etapas previas a la floración y en las etapas de emisión, transporte, dispersión o deposición (Skjøth *et. al.*, 2007).

Temperatura. De manera general la temperatura ejerce un efecto positivo sobre las concentraciones de las partículas, interviniendo en todas las fases de la fenología de las plantas y suele ser un factor decisivo para el inicio de la floración en plantas leñosas. El umbral de temperatura específico que cada especie debe acumular para que se produzca la dehiscencia de las anteras puede depender de la zona geográfica y de sus condiciones ambientales, existiendo una relación positiva entre la temperatura y el contenido polínico (Burns *et. al.*, 2013; Tormo-Molina *et. al.* 2011; Monroy-Colín, *et. al.*, 2018). Por ejemplo, una bajada en la temperatura implica un retraso en la apertura de las anteras (Emberlin, *et. al.*, 1990). Por otro lado, un aumento en la temperatura, unido a escasas precipitaciones provoca un aumento en la intensidad de la polinización

y en la duración de la emisión polínica. Además de interactuar en la apertura de las anteras, la temperatura también ejerce un efecto sobre el mantenimiento de las partículas en suspensión, provocando corrientes térmicas convectivas que facilitan el transporte vertical (Yates, 1993).

Precipitación. La lluvia también ejerce su influencia en las distintas fases de los procesos aerobiológicos: El efecto va a depender del estado fenológico de las plantas, de la estación del año o del momento del día en que se registren, así como de la intensidad (Alba, 1997). Las precipitaciones registradas en fases previas a la estación polínica favorecen el aumento de las concentraciones (Monroy-Colín *et. al.* 2020a). Si la lluvia ocurre en las etapas de liberación o dispersión se bloquea la liberación, ejerciendo una acción mecánica sobre las partículas aerovagantes precipitándolas al suelo y permitiendo el lavado atmosférico mayor en primavera y/o verano (Frenguelli *et. al.*, 1998). El efecto es menor si se registra en la noche o primeras horas de la mañana, ya que el incremento de las temperaturas diurnas hará que las anteras eliminen humedad, produciendo la antesis y la liberación de polen de manera normal (Alba, *et. al.*, 2010; Monroy-Colín *et. al.*, 2018). Otro factor para tener en cuenta es que al caer gotas de agua y tocar con el grano de polen, éste se hidrata y se produce la liberación del contenido alérgico, provocando la aparición de cuadros sintomáticos de alergia a bajos niveles (Knox, 1993).

Humedad relativa. El aumento de la humedad relativa favorece generalmente el desarrollo de la planta y la floración, pero al mismo tiempo produce un descenso en la concentración de polen. Este factor provoca retraso en la dehiscencia de las anteras ya que la pared se hidrata (Frenguelli *et. al.*, 1998), haciéndose más flexible y como consecuencia es más difícil su apertura y, por ende, la liberación de los granos de polen (Emberlin, 1994). La sequedad ambiental favorece la dispersión de los granos de polen, mientras que la gran capacidad de éstos para absorber la humedad hace que se vuelvan más pesados y sedimenten.

Insolación. La insolación está íntimamente relacionada con la temperatura, provocando el aumento del número de horas diarias de sol y un incremento en la concentración polínica. Este hecho se debe a la deshidratación producida en las paredes de la antera facilitando la dehiscencia (Galán, *et. al.*, 1995). Además, el incremento del fotoperiodo termina con la dormición de algunas plantas e inicia la síntesis de algunas hormonas como las gibelinas que favorecen la floración (Galán *et. al.*, 1995; Frenguelli *et. al.*, 1998).

Viento. El viento es un factor fundamental para que las partículas sean aerotransportadas. Sin embargo, es uno de los parámetros meteorológicos más complejos de analizar y para ello se debe descomponer en la dirección y la velocidad. La concentración polínica disminuye a medida que el aire se distancia de la fuente de emisión debido a fuerzas de turbulencia y convección (Pecero-Casimiro *et. al.*, 2019). La dirección del viento juega un papel esencial teniendo especial influencia en la composición aerobiológica, ya que una comunidad vegetal situada en el recorrido del viento provocará una nube compuesta por partículas provenientes de la misma. Una corriente horizontal que suponga un metro por segundo es capaz de contrarrestar la fuerza de gravedad de las partículas aerovagantes y evitar su sedimentación, con lo que estas partículas pueden ser transportadas a largas distancias. Las bajas velocidades de viento bajan y elevan cantidades importantes de granos de polen (Frenguelli *et. al.*, 1998). En cuanto a la velocidad, si es excesiva se produce una dilución del contenido en el aire. De esta misma manera si es baja la dispersión se ralentiza y la liberación se detiene (Bricchi *et. al.*, 1992). Este factor también actúa favoreciendo la refluotación de polen ya sedimentado, provocando un aumento de tipos polínicos procedentes de plantas que ya han finalizado su polinización, aunque a baja concentración (Emberlin, 1995).

Fenología. La fenología es otro factor que influye en el contenido aerobiológico. Literalmente es la “ciencia de la apariencia”. El término fenología proviene del griego “*phainos*” que significa aparecer (Hopp *et. al.* 1972). Lieth en 1974 lo describió como el estudio de los eventos biológicos en plantas y animales, tales como floración, hojear, hibernación, reproducción y migración que se repiten periódicamente en el tiempo.

Actualmente, el término fenología hace referencia al estudio de los eventos biológicos recurrentes en plantas y animales, y a su relación con las variaciones del clima (Schwartz, 2013).

La fenología vegetal se refiere a la producción periódica de las estructuras vegetativas y reproductivas como resultado de interacciones con factores bióticos y abióticos como el clima entre los eventos fenológicos, considerando la floración como el proceso más importante. Los registros de observaciones fenológicas en plantas más antiguos datan del año 705 a.C. realizados por parte de la familia real en Kioto, y las primeras observaciones fenológicas de forma sistemática y continuada se registran en el siglo XVIII (Menzel, 2002). En Europa, los primeros registros fenológicos se remontan al año 1736, donde Robert Marsham comenzó a tomar nota de las fechas en las que aparecían los primeros brotes de algunas especies de plantas (Gordo, 2007). En 1751 aparecieron los primeros “calendarios estacionales”, al describir Linneo en su obra *Philosophia botánica* los métodos para la elaboración de dichos calendarios. A partir del siglo XIX, la fenología se vuelve una ciencia muy popular y surgen diversas redes de observatorios fenológicos coordinados por los observatorios meteorológicos (Gordo, 2007).

En España las primeras observaciones fenológicas son muy recientes y escasas. En 1921 se creó el Servicio Meteorológico de Cataluña que, dentro de sus estudios, incorporó algunas observaciones fenológicas de plantas y animales. Hasta este momento, sólo se hacían observaciones en animales, específicamente en aves (Gordo, 2007). En 1942, José Batista Díaz elabora unas instrucciones tituladas “*Las observaciones fenológicas, indicaciones para su implantación en España*” (Batista-Díaz, 1942). Un año más tarde, este mismo meteorólogo, publica el “*Atlas de plantas para las observaciones fenológicas*” (Batista-Díaz, 1943). Desde 1958, el Instituto Nacional de Meteorología (INM), actualmente la AEMET, publica de forma regular el Calendario Meteorológico como complemento a la descripción climática del año agrícola, contando con datos fenológicos de más de ochenta especies, tanto animales como vegetales.

Aunque la mayoría de los taxones presentan un período de floración y liberación de polen, existen algunos que presentan más de un periodo de floración al año, mientras que en otros casi es ininterrumpida durante un largo periodo. Este tipo de

diferencias permiten conocer las distintas estaciones polínicas que determinan los distintos tipos polínicos en la atmósfera.

El periodo de floración no es un proceso fijo, sino que depende de factores como altitud, latitud, orientación, climatología de la zona, etc. Incluso el mismo individuo puede sufrir fluctuaciones interanuales causadas por el microclima (González Minero *et. al.*, 1998). Además de estos factores, la liberación de polen también se verá afectada por los diferentes mecanismos de polinización que presentan las especies. De esta manera, la mayoría de las especies anemófilas han desarrollado diferentes mecanismos que favorecen una mayor liberación de polen (Tormo-Molina *et. al.* 1996a). Diversos taxones arbóreos sitúan las flores masculinas en los extremos de las ramas como los amentos colgantes de álamos (*Populus* sp.), encinas (*Quercus* sp.), alisos (*Alnus* sp.), avellanos (*Corylus* sp.) o los de tipo racemiforme como el olivo (*Olea* sp.), fresnos (*Fraxinus* sp.) y abedul (*Betula* sp.), para ser más accesibles al viento.

Otra estrategia presente en árboles caducifolios como el fresno (*Fraxinus* sp.), olmo (*Ulmus* sp.) o los alisos (*Alnus* sp.) consiste en florecer antes de que se desarrolle el follaje con el fin de no presentar ningún obstáculo al viento. De esta misma manera, las anteras de las especies zoófilas están más o menos ocultas por el perianto de la flor dependiendo del mecanismo de polinización en las especies anemófilas están completamente expuestas. Otra característica de las plantas anemófilas es la gran producción de polen. Por ejemplo, una sola antera de *Olea europaea* puede contener más de 100 000 granos de polen o una antera de *Fraxinus angustifolia* más de 50 000 granos de polen (Tormo-Molina *et. al.* 1996a), mientras que las plantas entomófilas producen cantidades menores, entre 100 y 1000 granos de polen por antera, incluso esta cifra puede ser menor en algunas plantas autógamas (Nieto, 2008). El polen de las plantas anemófilas es seco y se dispersa individualmente, en comparación al polen de las plantas entomófilas que suele estar recubierto de diversas sustancias dispersándose de forma agrupada (Tormo-Molina *et. al.* 1996a; Nieto, 2008).

El estudio fenológico permite describir el clima local, los agroecosistemas y los ecosistemas naturales, ya que las distintas fases fenológicas son respuestas ecofisiológicas basadas en procesos bioquímicos. De esta manera se puede indicar que existe una correspondencia entre el espectro aeropolínico local y las formaciones vegetales colindantes. Aunque no siempre es fácil dar una interpretación simple a esta

relación, ya que las especies vegetales que integran dichas comunidades no contribuyen de igual forma, al variar su producción polínica, la eficacia de transporte de su polen o el tipo de polinización (Rojo, 2015; Monroy-Colín, *et. al.* 2020a). La variabilidad temporal en los elementos que componen el paisaje también altera de manera significativa la cantidad y calidad de los registros aerobiológicos (González Minero *et. al.*, 1998). La información fenológica se está convirtiendo en una herramienta de gran utilidad en los estudios aerobiológicos. Uno de los puntos de mayor interés en esta disciplina es la elaboración de modelos predictivos que permitan conocer el inicio de la estación polínica, su duración y severidad.

En 1997 Meier diseñó una escala fenológica para la normalización de los datos, adaptada por la BBCH (*Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und CHemische industrie*) para distintas especies de interés agronómico. En esta escala se divide el ciclo completo de desarrollo de las plantas en diez estadios principales claramente distinguibles. Estos estadios principales son descritos usando un par de números, el primer número va del 0 al 9 en orden ascendente, y el segundo número de nuevo del 0 al 9, pudiéndose presentar los estadios representativos para las diferentes especies y a diferente escala, donde el 99 representa al estadio posterior a la cosecha y el 00 al estadio de yemas durmientes (Meier, 2001).

2.5. Tipos estudiados

2.5.1. *Fraxinus angustifolia*

El género *Fraxinus* incluye árboles principalmente caducifolios, monoicos o polígamos y comúnmente conocidos como fresnos (Tormo-Molina *et. al.*, 2015). Sus hojas son opuestas, pecioladas, pinnaticompuestas, con inflorescencia racemiforme y fruto tipo sámara.

Se han descrito más de 40 especies que se distribuyen principalmente en el hemisferio norte y la mayoría de ellas en América del Norte y Asia oriental (FRAXIGEN, 2005). En Europa occidental aparecen tres especies que crecen espontáneamente y algunas se cultivan como plantas ornamentales. En la Península Ibérica, *Fraxinus excelsior* crece en el norte en la región eurosiberiana y *Fraxinus angustifolia* en el resto del área de la región mediterránea. Ambos árboles son polígamos y polinizados por el viento. La tercera especie es *Fraxinus ornus*,

androdioica y polinizada por insectos, apareciendo principalmente en el este (Andrés, 2012). El polen de *Fraxinus* generalmente muestra una fuerte influencia por parte de la vegetación cercana (Maya-Manzano *et. al.*, 2017b). Es abundante en suelos húmedos y frecuentemente observado en bosques de ribera (Kubik-Komar *et. al.*, 2018; Monroy-Colín *et. al.*, 2018).

El grano de polen de *Fraxinus* es de tamaño pequeño a mediano con un diámetro ecuatorial comprendido de 10 a 27 μm (Trigo *et. al.*, 2008). Es isopolar, con simetría radial, esférico o suboblato en vista ecuatorial y 3-zonocolporodado con una exina de aproximadamente 2 μm de grosor y con lúmenes del retículo miden de 1,2 a 1,4 μm . (**Fig. 5**) (Trigo *et. al.*, 2008).

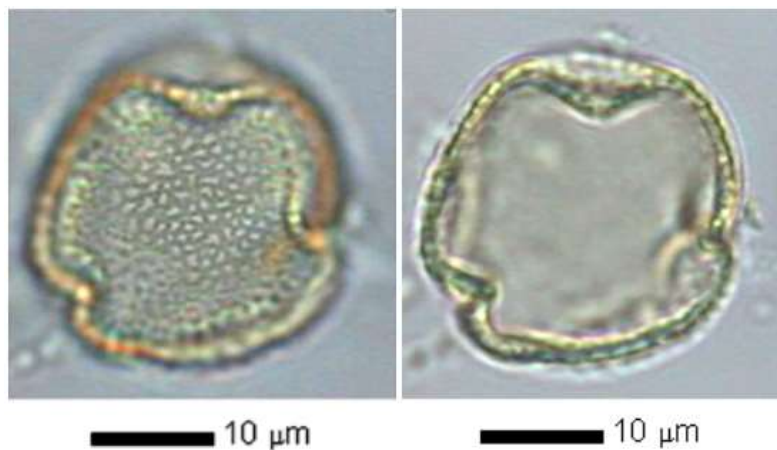


Figura 5. Grano de polen de *Fraxinus angustifolia*.

El principal problema de alergenicidad que tiene este tipo polínico es su reactividad cruzada con el polen de *Olea* y *Betula* (Hemmer *et. al.* 2000). La sensibilización no está bien establecida y depende del área geográfica (Monroy-Colín *et. al.* 2018). Varios estudios alertan de alergenicidad en el centro y oeste de Europa (Schmid-Grendelmeier *et. al.*, 1994; Hemmer *et. al.*, 2000; Poncet *et. al.*, 2010). Sin embargo, en un estudio realizado en 12 ciudades españolas no se encontró una asociación significativa entre las concentraciones de polen de *Fraxinus* y la prevalencia de sensibilización a *Fraxinus excelsior* (que va de 8% a 56%) en pacientes con polinosis (rinoconjuntivitis y/o asma) (Moral *et. al.* 2016).

En cuanto a los estudios fenológicos, los trabajos con este tipo polínico son escasos. Uno de los primeros seguimientos fenológicos se llevó a cabo en España, usando un captador Cour (**Fig. 4C**) (Candau *et. al.* 1994). En este estudio se demostró que la latencia de *Fraxinus angustifolia* ocurre durante la primera semana de enero, con la temperatura media más baja del año, y un mes después se llevaba a cabo la polinización (Monroy-Colín *et. al.* 2018). Jato. *et. al.* (2004) usaron un captador volumétrico de tipo Hirst en Galicia durante cinco años para determinar la temperatura ideal para desencadenar la floración, y reportan que las temperaturas inferiores a 0 °C y las precipitaciones al comienzo de la floración causaron un período más largo antes de que se registrara la fecha pico. Además, señalan que las temperaturas registradas en noviembre fueron muy importantes para la acumulación de frío y determinan los requisitos de calor necesarios para desencadenar la floración de *Fraxinus* en Galicia.

2.5.2. Cupressaceae

La familia de Cupressaceae está conformada por 30 géneros y alrededor de 133 especies distribuidas a lo largo de todo el mundo (Schulz *et. al.* 2005). Son árboles o arbustos monoicos, resinosos, habitualmente de hojas opuestas, escuamiformes, decusadas, perennes y corteza rugosa (Tormo-Molina *et. al.*, 2015). Los granos de polen tienen morfología esferoidal y su tamaño varía de 20 a 30 µm, siendo inaperturados, orbiculados y con exina fina y delgada (Bortenschlager, 1989; Trigo *et. al.*, 2008; Tormo-Molina *et. al.*, 2015) (**Fig. 6**).

La polinización de las cupresáceas se produce fundamentalmente desde noviembre hasta marzo, con predominio desde diciembre hasta febrero. Los síntomas alérgicos pueden confundirse fácilmente con infecciones víricas y catarros típicos de los meses de invierno. Los mayores recuentos se han producido en años de precipitaciones más altas, y las lluvias ocurridas en invierno pueden afectar a su periodo de polinización.



Figura 6. Grano de polen de Cupressaceae.

Durante las últimas décadas el polen de la familia Cupressaceae se ha citado como uno de los principales alérgenos presentes en el aire de la región Mediterránea y otras regiones del mundo (D'Amato *et. al.* 2007; Charpin *et. al.* 2017). Burbach *et. al.* (2009) estimaron una tasa de sensibilización del 3% en Europa, alcanzando hasta el 6% para Italia y 8,7% para Reino Unido. Sin embargo, estas cifras van en aumento por los siguientes argumentos: a) una mayor exposición debido al uso excesivo de estas especies como ornamentales dentro de las ciudades (Charpin *et. al.* 2019), b) la creciente alergenicidad de los granos de polen debido a los contaminantes atmosféricos (Wang *et. al.* 2010; Suarez-Cervera *et. al.* 2008; Okuyama *et. al.* 2007), c) una adecuada diferenciación de los síntomas producidos por la alergia a este tipo polínico y que en el pasado se confundía con enfermedades invernales como el resfriado común (Charpin *et. al.* 2019) y d) al calentamiento global, ya que se ha comprobado que el periodo de polinización presenta un incremento en su duración, llevándose a cabo una redistribución de la familia Cupressaceae hacia latitudes más al norte lo que conlleva a los individuos a una nueva exposición y, por ende, un aumento de la sensibilización en estas regiones (Charpin *et. al.* 2019). Además, los pacientes alérgicos al polen de la familia Cupressaceae presentan una mayor incidencia de rinitis y conjuntivitis en comparación a otras polinosis (Bousquet *et. al.* 1993; Hrabina *et. al.* 2003; Pahus *et. al.* 2018).

En 2013 el Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) realizó un estudio multicéntrico en 13 ciudades españolas para valorar la prevalencia de sensibilización a los pólenes más relevantes

en España. Las ciudades que presentaban una mayor prevalencia de sensibilización a cupresáceas eran precisamente aquellas que tenían una mayor concentración de árboles (Moral de Gregorio, 2003). Los estudios fenológicos de la familia Cupressaceae en España son escasos, abarcando una o dos especies como más representativas. De manera general, en esos estudios se concluye que la lluvia y la humedad relativa influyen en la presencia de este tipo polínico en la atmósfera (Galán *et. al.*, 1998; Cariñanos *et. al.*, 2000; Aira *et. al.*, 2001; Tortajada & Mateu 2008; Silva-Palacios *et. al.*, 2016b).

2.5.3. *Olea europaea*

El olivo (*Olea europaea*) es una especie de gran interés socioeconómico en la región mediterránea, siendo el análisis de su ciclo biológico frecuentemente objeto de estudio (Galera *et. al.* 2018; Rojo *et. al.* 2016; Sefc *et. al.* 2001; Galán *et. al.* 2001a; Galán *et. al.* 2001b; Orlandi *et. al.* 2020). El género *Olea* incluye alrededor de 35 especies en todo el mundo. El 98% de los olivares se concentran en el área mediterránea y el 24% en España, concentrándose principalmente en Andalucía (62%), Castilla-La Mancha (15%) y Extremadura (11%) (Sefc *et. al.*, 2001 y Rojo *et. al.*, 2016). El olivo es un árbol perennifolio con las hojas opuestas, simples, pecioladas y limbo espatulado, con inflorescencias racemosas y fruto en drupa (Tormo-Molina *et. al.*, 2015).

El polen de *Olea europaea* se considera uno de los principales tipos polínicos responsables de las enfermedades alérgicas que ocurren en la región mediterránea (D'Amato *et al.*, 2007). Una elevada proporción de pacientes mediterráneos muestran sensibilizaciones de hasta el 40%, de los cuales el 80% presentan reactividad cruzada (Moreno-Grau *et al.* 2016). Los granos de polen son trizonocolporados, esferoidales y reticulados (**Fig. 7**) con un tamaño pequeño (20 a 29 μm) (Trigo *et. al.*, 2008).

El olivo florece durante la primavera y la producción de flores está condicionada por importantes regulaciones fisiológicas que dependen directamente de las condiciones ambientales del año anterior. Además de esto, existen condiciones genéticas específicas para cada variedad (Rosati *et. al.*, 2012; Rojo, 2014; Rojo & Pérez-Badia, 2015). Según los registros de las estaciones aerobiológicas de la Red

Española de Aerobiología (RAE), la polinización del olivo se produce en los meses de abril a junio (Trigo *et. al.*, 2008).

Estudios previos señalan que la fenología del olivo es de un ciclo bianual, incluyendo la formación de brotes durante el verano anterior, la latencia durante el período frío, la brotación a fines del invierno y el desarrollo de la estructura floral desde la brotación hasta la floración en primavera (Zhu *et. al.*; 2012). La temperatura se considera uno de los factores más importantes para que inicie la floración del olivo (Rojo 2014).

La fenología floral del olivo es muy similar en sitios con condiciones meteorológicas similares, sin importar la latitud (Orlandi *et. al.*, 2005) y teniendo en cuenta la fuente de origen. Por esto, se recomienda tener un mapa detallado de la fuente de origen en las ciudades para utilizarlo como herramienta preventiva (Skjøth *et. al.*, 2013).

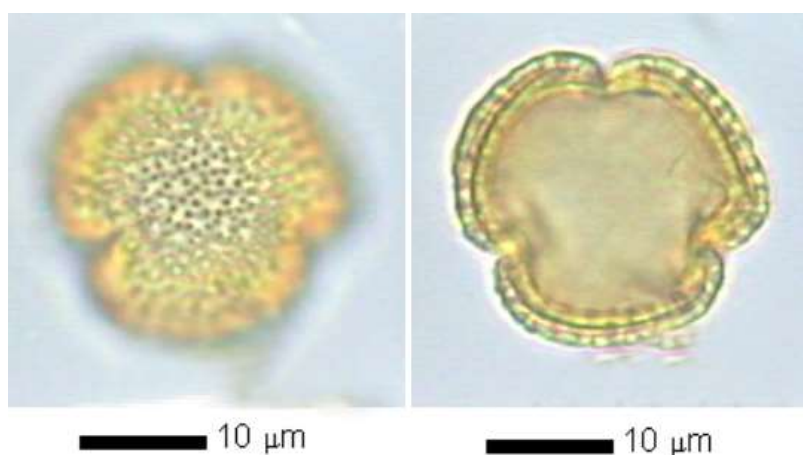


Figura 7. Grano de polen de *Olea europaea*

2.6. Modelización ambiental

El material biológico de menor tamaño como bacterias, virus, esporas, polen, líquenes o semillas (de tamaño pequeño) puede hallarse suspendido en la atmósfera y ser transportado por el viento a grandes distancias bajo determinadas circunstancias meteorológicas, pudiendo ser transportado grandes cantidades de este material puede ser transportado a distancias de centenares o miles de kilómetros (Belmonte *et. al.* 2005). Actualmente, la distribución y transporte de este material biológico a lugares lejanos está recibiendo mucha atención debido a las importantes consecuencias que

tiene en aspectos como: a) el transporte de patógenos, b) la expansión de las áreas biogeográficas de diversos organismos, y c) los efectos de la dispersión de polen alergénico en la salud humana. (Belmonte *et. al.* 2005).

El conocimiento de las distribuciones de plantas ornamentales con polen potencialmente alergénico y su fenología permite crear mapas de riesgos urbanos (Pecero-Casimiro *et. al.* 2019) y tomar medidas preventivas que permitan una mejor preparación por parte de los servicios de médicos que pueden ser saturados durante períodos de altos niveles de polen en el aire (Galán, *et. al.*, 2001; Charalampopoulos *et. al.*, 2018). También son útiles para reducir la exposición al polen e iniciar el tratamiento en los momentos apropiados (Tedeschini *et. al.*, 2006; Monroy-Colín *et. al.* 2020b). Las distribuciones de polen dentro de las ciudades dependen de varios factores como los microclimas, las ubicaciones espaciales de los árboles, las direcciones predominantes del viento en relación con las ubicaciones de las fuentes y la situación del captador, así como las alturas de los edificios (Maya-Manzano *et. al.*, 2017a; Maya-Manzano *et. al.*, 2017b; Charalampopoulos *et. al.*, 2018; Fernández-Rodríguez *et. al.*, 2018).

Las técnicas geoestadísticas y los sistemas de información geográfica se han utilizado recientemente para modelizar la floración de especies ornamentales como las que se presentan en la presente Tesis Doctoral. Estas herramientas proporcionan interpretaciones fiables de los datos aerobiológicos y los factores involucrados en la dispersión del polen en el aire (Rojo & Pérez-Badia, 2015). Recientemente, ha habido un aumento en el mapeo de estos árboles en entornos urbanos (Maya-Manzano *et. al.*, 2017a) y en áreas regionales a intensidades de polen modelado (Rojo *et. al.*, 2016; Aguilera *et. al.*, 2015).

Hay ocasiones en las que los datos de fenología no coinciden con las concentraciones polínicas registradas por los captadores aerobiológicos presentándose un desfase en ambos picos, ya sea previos o posteriores (Belmonte *et. al.* 2005; Estrella *et. al.*, 2006; Monroy-Colín *et. al.* 2020a). En estos casos se hace énfasis en el transporte de larga distancia ya que no pueden ser explicados por la fenología local. Si las predicciones de picos para polen alergénico se realizasen únicamente con base a los datos locales no pueden predecirse episodios importantes de llegada de polen de zonas lejanas dificultando la protección de pacientes susceptibles a estos alérgenos.

Por ello, es necesario incluir la modelización del transporte atmosférico a larga distancia en los protocolos de predicción (Belmonte *et. al.* 2005; Skjøth *et. al.*, 2012).

Basado en análisis aerobiológicos previos en el área de estudio (Fernández-Rodríguez *et. al.*, 2014; Maya-Manzano *et. al.*, 2016) y en ubicaciones cercanas (Hernández-Ceballos *et. al.*, 2011; Hernández-Ceballos *et. al.*, 2012; Hernández-Ceballos *et. al.*, 2014), los episodios de transporte a larga distancia deben considerarse en el estudio de los ciclos temporales de las concentraciones de polen y su atribución a las fuentes locales (Skjøth *et. al.*, 2012). Este factor puede ser especialmente importante para aquellos tipos polínicos con fuerte presencia fuera de los núcleos urbanos, planteándose en la presente Tesis Doctoral para el tipo polínico *Olea* (Monroy-Colín *et.al.*, 2020a).

El modelo de dispersión conocido como *Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model* (HYSPLIT) se basa en el estudio de las trayectorias o las localizaciones para partículas individuales híbridas que están integradas de una forma lagrangiana (Draxler & Hess, 1998), pudiendo ser útil para lograr una comprensión completa de algunas de las discrepancias entre el contenido de polen y la fenología. Esta herramienta también proporciona información detallada sobre los caminos seguidos por las masas de aire hasta su llegada al área de estudio, siendo útil para una gama de aplicaciones científicas relacionadas con el análisis de la calidad del aire (Borge *et. al.* 2007; Hernández-Ceballos *et. al.* 2011). En este trabajo se utiliza el cálculo de la dispersión de partículas (Stein, 2015), lo que proporciona información sobre las características de los movimientos de masas de aire sobre una región en términos de su origen, rutas horizontales y altitudes. Se prefirió este método sobre el tradicional de retrotrayectorias porque este último presenta asociada más incertidumbre en su modelización al tratarse de trayectorias únicas (De Weger *et al.*, 2016; Stohl & Seibert 1998).

3. Justificación e hipótesis de partida

El valor de la información aerobiológica se incrementa con la cantidad de años muestreados y el número de puntos de muestreo. En Extremadura, región de España en el SO de la Península Ibérica, el muestreo aerobiológico volumétrico se inició en 1993 en la ciudad de Badajoz. En la actualidad se cuenta con cuatro lugares más de muestreo que abarcan una parte representativa de la superficie del territorio: Plasencia, Cáceres, Don Benito y Zafra. La ciudad de Badajoz es la más poblada en Extremadura, presentando una climatología mediterránea con cierta continentalidad y el uso del suelo en los alrededores se reparte principalmente entre cultivos de secano y dehesas. La demanda por parte de la ciudadanía de información aerobiológica hace de gran interés que se realice un muestreo aerobiológico y se informe públicamente de los resultados obtenidos de forma periódica.

Un conocimiento más profundo sobre los principales factores que controlan las variaciones anuales de la floración es de gran interés no sólo a nivel médico, si no muchas veces a nivel agronómico, dado la importancia de algunas especies para la producción de frutos. El estudio fenológico permite describir el clima local ya que las distintas fases fenológicas son respuestas ecofisiológicas basadas en procesos bioquímicos como respuestas a las condiciones ambientales. De esta manera se puede indicar que existe una correspondencia entre el espectro aeropolínico local y las formaciones vegetales colindantes. Aunque no siempre es fácil dar una interpretación simple a esta relación, ya que las especies vegetales que integran dichas comunidades no contribuyen de igual forma, al variar su producción polínica, la eficacia de transporte de su polen o el tipo de polinización. De esta manera, la información fenológica se está convirtiendo en una herramienta de gran utilidad en los estudios aerobiológicos para tener una visión más integral del comportamiento aeropolínico de cada especie.

La hipótesis de partida planteada en esta Tesis Doctoral es la influencia de los factores abióticos y ambientales en la no coincidencia de la fenología de especies botánicas urbanas con sus registros aerobiológicos en entorno urbanos, ocurriendo esta coincidencia la mayoría del tiempo. Así pues, conocer dicho grado de coincidencia,

cuantificar y estudiar los factores que influyen en sus desajustes puede servir para desarrollar estrategias que ayuden a desarrollar mejores modelos de predicción y que prevengan a los pacientes alérgicos y médicos alergólogos durante la estación polínica. Para demostrarlo, se estudiaron tres tipos polínicos con importancia en Aerobiología y que presumiblemente presenten casuísticas distintas. Asimismo, se pretende estudiar el impacto que tienen en estas divergencias variables como los parámetros meteorológicos, la ubicación de las especies ornamentales a estudiar dentro de cada ciudad y posibles episodios de transporte a media-larga distancia.

4. Objetivos

4.1. Objetivos generales

1. Realizar un muestreo aerobiológico continuado en la atmósfera de Badajoz utilizando un captador volumétrico fijo.
2. Analizar cualitativa y cuantitativamente el contenido polínico de la atmósfera de la ciudad, observando su evolución estacional, las diferencias interanuales y la distribución intradiaria del polen.
3. Estudiar las fuentes de origen de granos polen, localización precisa en las áreas próximas al captador y la ubicación general en áreas más alejadas dentro de Badajoz.
4. Estudiar la fenología de diversas especies con interés alergénico en entornos intraurbanos y extraurbanos de Badajoz.
5. Estudiar las relaciones existentes entre las concentraciones de polen en la atmósfera con los diversos parámetros meteorológicos.

4.2. Objetivos específicos

Capítulo I

1. Realizar el estudio fenológico de *Fraxinus angustifolia* durante dos periodos de floración (2015-2016 y 2016-2017).
2. Georreferenciar las fuentes de origen de producción de polen alrededor del captador volumétrico.
3. Analizar las tendencias del polen atmosférico de *Fraxinus angustifolia* durante un período de registro de 24 años y asociarla con la distribución de fuentes de polen alrededor del captador volumétrico, teniendo en cuenta los parámetros meteorológicos y la fenología.

Capítulo II

1. Realizar el estudio fenológico y georreferenciar las especies de la familia Cupressaceae presentes en Badajoz durante un periodo de tres años.
2. Análisis de la relación entre la concentración de polen de Cupressaceae en el aire y los parámetros meteorológicos y la fenología de las especies estudiadas.

Capítulo III

1. Realizar el estudio fenológico de *Olea europaea* durante cuatro años (2016-2019).
2. Analizar y relacionar la influencia de la vegetación a través del estudio de la fenología con la presencia del polen en el aire.
3. Realizar análisis de retrotrayectorias para determinar la posible llegada de masas de aire procedentes de larga distancia cuando existen diferencias entre los registros máximos de la fenología y la concentración de polen de *Olea europaea* en el aire.

5. Material y métodos

5.1. Área de estudio

La ciudad de Badajoz ubicada en el suroeste de España (**Fig. 8**) se encuentra a 184 m de altura sobre el nivel del mar, cruzada por el río Guadiana y con el río Gévora como afluente.

Es la ciudad con mayor población de Extremadura con 150 702 habitantes (INE, 2020), que supone el 21,71% del total de la población provincial y el 13,64% del total regional. La extensión es de 1470 km², la segunda extensión más grande de la región tras la ciudad de Cáceres.

La densidad poblacional de Badajoz es de 102,46 hab/km² lo que supera ampliamente la media regional y provincial. Está rodeada de cultivos de regadío (maíz, árboles frutales y otros cultivos de hortalizas) y cultivos secos (trigo y avena). La vegetación natural en la región incluye bosques mediterráneos de encinas y alcornoques para su uso como dehesa para el ganado.



Figura 8. Red Extremeña de Aerobiología que incluye el captador de la ciudad de Badajoz.

Según la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET), Badajoz dispone de un clima mediterráneo típico de la Península Ibérica en el que comparte con el resto del territorio la existencia de una estación seca en los meses estivales. Así, durante el invierno las temperaturas son moderadamente frías ya que las mínimas no superan los 8 °C principalmente en los meses de enero, febrero y diciembre. En esta época invernal, el promedio de heladas anuales es de 21 días siendo más de la mitad registrados en los meses de diciembre y enero. En el verano las temperaturas son bastante más elevadas, principalmente entre los meses de junio a septiembre cuya temperatura diaria máxima supera los 30 °C. En cuanto a las estaciones intermedias, primavera y otoño son poco duraderas desde el punto de vista térmico puesto que se pasa rápidamente del frío invernal al calor estival. En cuanto a las precipitaciones, los parámetros climáticos indican un total de 469 mm en los 61 días de lluvias que se contabilizan anualmente siendo el mes de diciembre el que destaca con mayor número de días.

Badajoz se encuentra en la comarca de las Vegas del río Guadiana, una zona con uso fundamentalmente agrícola. Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 2009) las zonas en las que se divide el territorio próximo a la ciudad corresponde por orden de importancia a las siguientes (**Fig. 9**):

a) Cultivos herbáceos de regadío (30%) concentrados a ambos lados de los ríos Guadiana y Gévora. Se destacan cereales de grano (maíz, cebada, trigo y sorgo), hortalizas (tomate, pimiento, coliflor, melón, sandía, lechuga, escarola y cebolla), leguminosas de grano (guisante, habas, judías verdes), cultivos industriales (remolacha, girasol y algodón), cultivos forrajeros (alfalfa, sorgo, veza y avena) y plantas medicinales. Las huertas aparecen en parcelas reducidas para el autoconsumo (patata, tomate, pimiento, lechuga, col y coliflor) y en los límites se plantan frutales como higueras, manzanos, perales o ciruelos.

b) Cultivos herbáceos de secano, fundamentalmente junto a la frontera con Portugal, corresponden a labores intensivas (trigo, cebada, girasol, garbanzo, haba y melón) o labores extensivas (cebada, avena y veza-avena). Pueden ser cultivos sin arbolado (24%) o con arbolado de encinas (8%).

c) Pastizales (5,4%) dominados por gramíneas y algunas leguminosas.

d) Frutales (2%) de secano (almendro, higuera, melocotonero y ciruelo) o de regadío (peral, manzano, melocotonero, ciruelo y naranjo). Otros cultivos arbóreos

incluyen olivares (2%), viñedos (1%), eucaliptales (5,5%), choperas (0,4%) y algunos pinares y matorrales.

e) Terrenos urbanizados o improductivos que representan un 9%.

f) Encinares (12,4%) y alcornocales (0,1%) que pueden utilizarse como labor intensiva o extensiva o como pastizales con arbolado. En algunos lugares se conserva el matorral más o menos aclarado, que incluye jara pringosa (*Cistus ladanifer*), aulaga (*Genista scorpius*), cantueso (*Lavanda stoechas*), jaguarzo blanco (*Halimium halimifolium*), morisco (*Cistus salviifolius*), retamas (*Retama sphaerocarpa*), torvisco (*Daphne gnidium*), labiérnagos (*Phillyrea angustifolia*), lentiscos (*Pistacia lentiscus*), etc., en algunos enclaves con sustratos básicos son frecuentes la jara blanca (*Cistus albidus*), coscoja (*Quercus coccifera*), cornicabra (*Pistacia terebinthus*), etc.

g) Dentro de la vegetación riparia aparecen alisos (*Alnus glutinosa*), fresnos (*Fraxinus angustifolia*), atarfes (*Tamarix boveana*), sauces (*Salix* spp.), olmos (*Ulmus* spp.) y chopos (*Populus* spp.), entre los que se mezclan a menudo árboles ornamentales subespontáneos como acacias de tres espinas (*Acacia* spp.), árboles del cielo (*Ailanthus altissima*) o incluso plantados como eucaliptos (*Eucalyptus* spp.). La vegetación arbustiva que acompaña a estas formaciones presenta adelfas (*Nerium oleander*), zarzas (*Rubus ulmifolius*), mirtos (*Myrtus communis*), tamujos (*Flueggea tinctoria*), etc.

h) La flora ornamental aparece bien representada en los parques de Castelar, Infantil, La Legión, San Fernando, C.A.B.S.A., La Alcazaba, Nueva Plaza de Toros y Puerta Pilar (Devesa, 1995; MAPA, 2009).

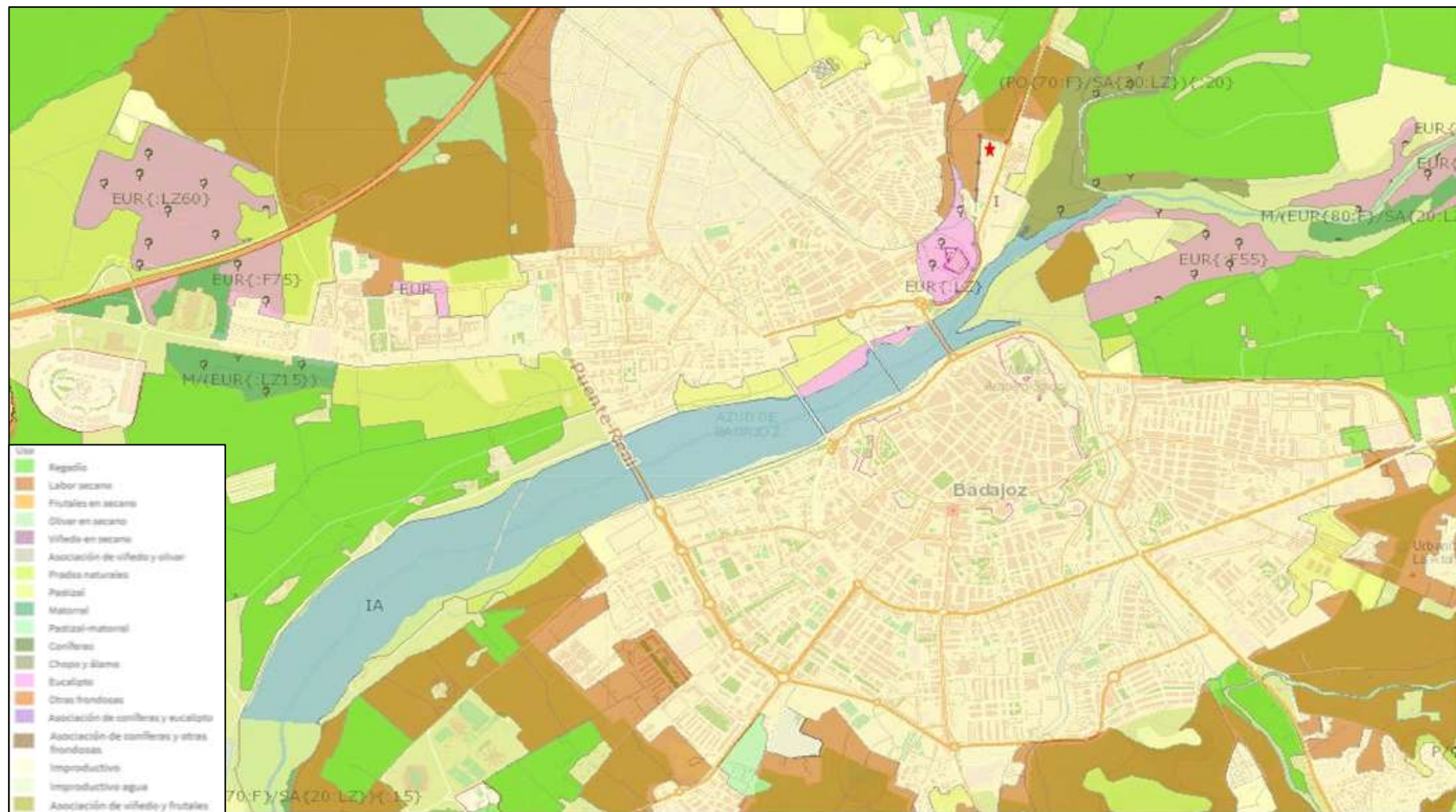


Figura 9. Mapa de cultivos y aprovechamiento de la ciudad de Badajoz y alrededores.
En rojo la ubicación del captador. Tomado y modificado de MAPA, 2009

5.2. Periodo de estudio

El periodo de estudio del presente trabajo corresponde desde la primavera (20 de marzo) de 2015 al verano (20 de septiembre) de 2019. Para *Fraxinus angustifolia*, también se utilizaron los datos registrados durante 24 años, de 1993 a 2016 pertenecientes a la Red Extremeña de Aerobiología, con la excepción de la temporada 1995-1996 y 2001-2002 debido a problemas con el funcionamiento del captador. El horario de muestreo se ha realizado de forma continuada cambiando el tambor del captador diariamente a las 10:00 horas del horario oficial (08:00 horas solares en verano, 09:00 horas solares en horario de invierno).

5.3. Procesamiento de muestras

5.3.1. Toma de muestras

La metodología de muestreo de partículas biológicas utilizada para este trabajo, sigue las recomendaciones propuestas por la REA para el estudio del polen aerovagante (Galán *et. al.* 2007). La toma de muestras se realizó con un captador volumétrico tipo Hirst (Hirst, 1952), marca comercial Burkard (**Fig. 10**) con una autonomía de siete días.



Figura 10. Captador volumétrico tipo Hirt utilizado en la toma de muestras.

Dicho captador consta de tres unidades (**Fig. 11A**): la unidad de impacto, una veleta y una bomba de vacío. La unidad de impacto se compone de un orificio de entrada de 14×2 mm (**Fig. 11B**) y de un soporte circular comúnmente llamado tambor (**Fig. 11C**). Sobre este tambor se dispone una cinta plástica de Melinex® con un tamaño de 14×336 mm (**Fig. 11D**), impregnada de una solución de petrolatum (CAS 8009-03-8) para que las partículas que son succionadas desde el exterior a cierta velocidad puedan quedar adheridas. Dicha sustancia cumple con las siguientes características recomendadas por la REA (Galán *et. al.*, 2007) y con las recomendaciones de Tormo-Molina *et. al* (2013): insoluble en agua, no se seca ni se evapora, su grosor permanece constante durante el transcurso del muestreo pese a lo cambios de temperatura y humedad, retiene eficazmente las partículas, no permite el desarrollo microbiano, posee buenas cualidades ópticas y es compatible con la glicerogelatina para el posterior montaje y fijación de las muestras. De esta manera se puede minimizar los efectos de rebote.

Dicho tambor se encuentra conectado a un reloj con mecanismo de giro que posibilita el movimiento del soporte a razón de 2 mm cada hora. La veleta se encuentra adosada al exterior de la estructura metálica que protege la unidad de impacto y su función es la de mantener el orificio de entrada en la dirección del viento predominante. De esta manera, aumenta la eficacia de captación de las partículas aerovagantes. Por último, la bomba de vacío permite la succión de un volumen de aire determinado, regulable a partir de un sistema de ajuste. El caudal de succión medio es de 10 L/min, similar al volumen de inhalación de aire que efectúa en promedio un ser humano adulto en condiciones normales.

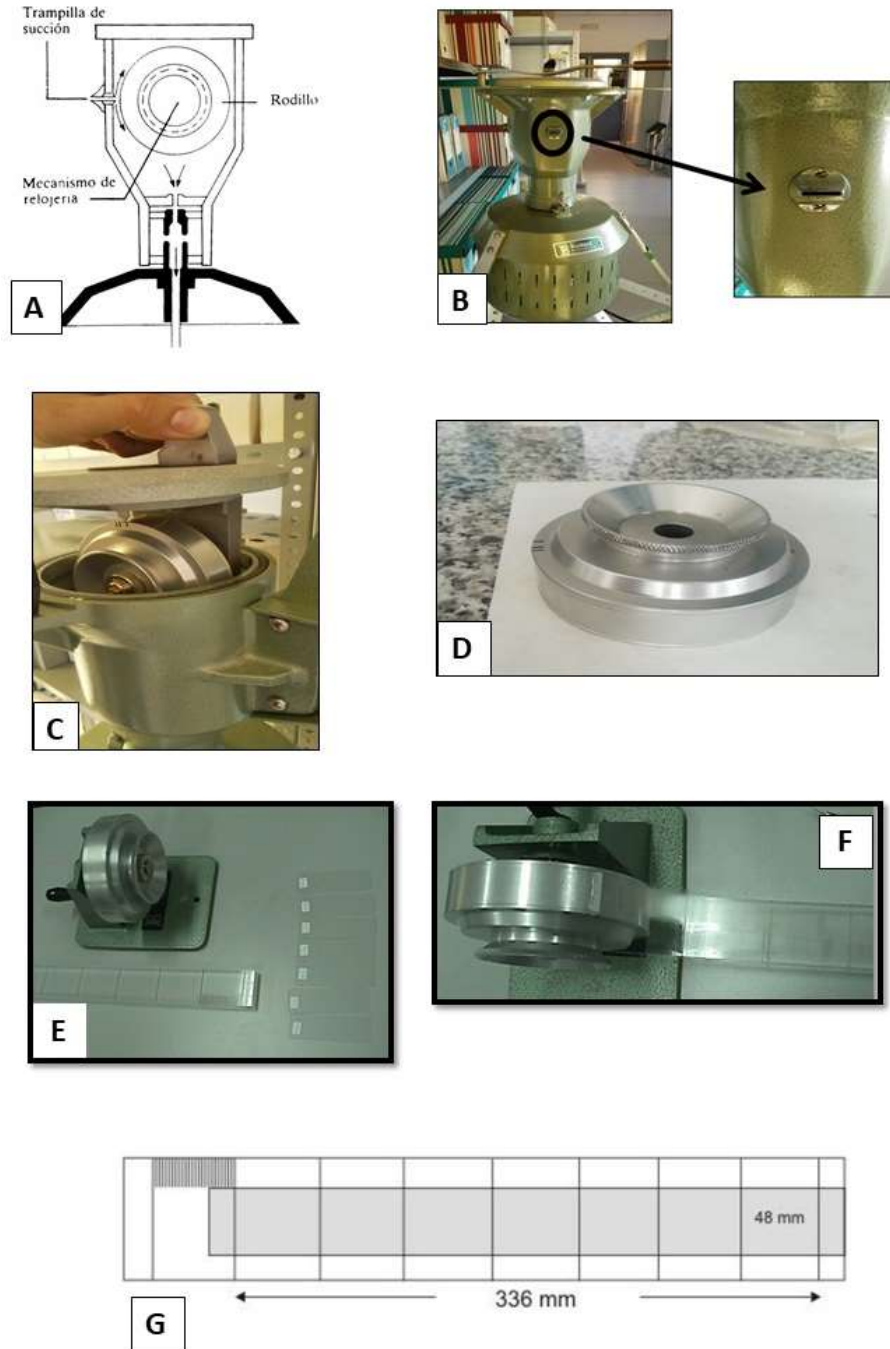


Figura 11. Proceso utilizado para la toma de muestras.

A) Esquema que representa el interior del captador volumétrico. B) Ubicación del orificio de entrada de aire al interior del captador. C) Posición del tambor al interior del captador. D) Tambor con cinta Melinex®. E) Preparación para obtener las muestras, portaobjetos etiquetados y regla de metacrilato utilizada para realizar los cortes. F) Retiro de la cinta del tambor Melinex®. G) Esquema que representa la ubicación de la cinta Melinex® con respecto a la regla de metacrilato (Tomado y modificado de Galán *et. al.* 2007).

El captador se instaló en la Escuela de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Extremadura (38°53' N, 6°58' W). Siguiendo las recomendaciones de la REA para la ubicación de los captadores (Galán *et. al.* 2007) y las consideraciones descritas por Tormo-Molina *et. al.* (1996; 2013). La ubicación en la que se ha instalado el captador que se utilizó en este estudio cumple con las siguientes características: a) Disposición de fácil acceso durante las 24 horas del día y durante los 365 días del año. Además de contar con un acceso exclusivo para personal autorizado. b) Carece de barreras que actúen de pantalla obstaculizando la libre circulación del viento. c) Se ha evitado instalar el captador cerca del borde del edificio para eliminar en lo posible las turbulencias generadas por el choque del viento contra el obstáculo. d) Cuenta con un suministro asegurado de energía eléctrica lo que permite el muestreo ininterrumpido. e) Está a una altura de 6 m sobre el nivel del suelo, que según Faegri & Iversen (1975) está dentro del margen adecuado para no sobrevalorar las especies herbáceas (en el caso de estar a nivel del suelo) y evitar corrientes convectivas (si estuviera a mayor altura) y f) Se ha evitado instalar el captador cerca de fuentes de emisión masiva de partículas y de poblaciones vegetales monoespecíficas en el entorno inmediato al de ubicación del equipo de muestreo para evitar la sobre presentación de algún tipo polínico.

5.3.2. Análisis y recuento de muestras

Para facilitar la colocación de la cinta de Melinex® sobre el tambor de captación, se utilizó un soporte giratorio suministrado por la misma casa comercial del captador (Fig. 11E), evitando de esta manera la posible contaminación de la muestra. En el tambor existen dos marcas laterales que indican los puntos de inicio y fin de muestreo. Se colocó sobre ellas una cinta adhesiva de doble cara para sujetar los extremos de la cinta de Melinex®. En el momento de la colocación del tambor dentro del captador, se marcó la cinta con ayuda de una aguja para identificar el inicio del muestreo. Una vez finalizado el muestreo máximo semanal, es decir después de cada siete días, tiempo que tarda el tambor en dar una vuelta completa, se efectúa la preparación de muestras.

En primer lugar, es retirada la cinta de Melinex® del tambor con ayuda de unas pinzas, depositándose con precaución de que la parte impactada se deje hacia arriba (**Fig. 11F**). Se coloca la cinta sobre una regla de metacrilato que presenta hendiduras que ayudan a dividir la cinta en siete fracciones de 48 mm correspondientes a cada día de muestreo manteniéndose la precaución para hacer coincidir la marca del inicio del muestreo con la primera hendidura de la regla (**Fig. 11G**). Dichos fragmentos se colocan sobre un portaobjetos previamente etiquetado con la fecha correspondiente. A continuación, se deposita una línea continua de glicerogelatina derretida y teñida previamente con fucsina sobre un cubreobjetos que se coloca sobre la muestra y el portaobjetos. Cada preparación contiene las partículas recogidas durante un período de 24 horas. Para separar los intervalos horarios se utiliza una plantilla transparente de acetato rayado de color negro a intervalos de 2 mm que corresponde al desplazamiento del tambor cada hora y es colocado en la parte posterior de la preparación. De esta manera, la preparación queda lista para el conteo polínico.

El análisis de las muestras se realizó con microscopía óptica utilizando un microscopio óptico binocular Nikon ECLIPSE E 400, teniendo un campo de visión de 0,54 mm. Para dicho análisis se ha seguido la metodología propuesta por Galán *et. al.* (2007), que propone realizar cuatro barridos longitudinales. Sin embargo, el tamaño muestral para este tipo de estudios, aceptando un error de 0,05% es inferior a 400. Por lo tanto, siguiendo las recomendaciones de Tormo-Molina *et. al.* (1996b) que proponen dos barridos para alcanzar un tamaño muestral representativo, se realizaron dos barridos paralelos a lo ancho de la banda aerobiológica, identificando y cuantificando el contenido aerobiológico en cada preparación. Tormo-Molina *et. al.*, (1996b) proponen que cuando son dos los puntos de barrido, estos se deben situar al centro de la preparación y estar separados por un milímetro de distancia, ya que la distribución de las partículas aerobiológicas en la cinta Melinex® no es homogénea, sino que, en sentido transversal, hay una reducción progresiva en la concentración de partículas hacia los bordes y que en caso de realizarse los barridos en los bordes de las preparaciones se puede perder más del 7% de la información.

Los resultados de tipos polínicos serán presentados en tablas de Microsoft® Excel® para su tratamiento estadístico. Para mostrar el resultado final de granos de polen/m³ de aire se emplearon factores de corrección que permiten estimar la

concentración aerobiológica a partir de valores absolutos. Para ello se multiplicó el número de partículas contadas por el factor de conversión determinado. Teniendo en cuenta que: a) se realizaron dos barridos, b) el flujo de aspiración del captador es de 10 L/min y c) el tiempo de muestreo es de 24 horas al día; estimándose que es muestreado un volumen de aire total de 14,4 m³/día. El área total de la muestra es de 672 mm² (488 mm × 14 mm) y el área total muestreada es de 51,84 mm² (488 mm × 0.54 mm × 2). Por lo tanto, el volumen de aire muestreado analizado es de 1,11 m³/día. A modo de ejemplo, si un grano de polen está incluido en 1,11 m³/día, 1 m³/día contendrá 0,9 grano de polen.

5.4. Tipos analizados

La identificación de los tipos analizados está basada en las características morfológicas de los granos de polen observados a microscopía óptica. Esto tiene como principal limitación que, en la mayoría de los casos, no sea posible realizar una identificación a nivel de especie, ya que un tipo polínico engloba taxones de distintas categorías (especies, géneros o familias) que muestran una configuración morfológica y estructural similar. La identificación de los tipos polínicos aparecidos en las muestras se efectuó por comparación con los granos contenidos en la palinoteca de la Universidad de Extremadura de referencia y con ayuda de estas monografías: Wodehouse (1959); Nilsson *et. al.* (1977); Valdés *et. al.* (1987); Munuera *et. al.* (2001); Smith (2000) y Trigo *et. al.* (2008).

En cuanto a los tipos polínicos, aunque se identificaron y contabilizaron todos los tipos polínicos presentes en las muestras, cerca de 37 tipos polínicos diferentes, se seleccionaron tres de los más abundantes en la atmósfera de la ciudad de Badajoz (Tavira *et. al.*, 2004; Gonzalo-Garijo *et. al.* 2006): *Fraxinus*, Cupressaceae y *Olea* para realizar un estudio fenológico más detallado. A la hora de analizar las muestras se ha procurado determinar el mayor número posible de granos de polen en aquellos casos en los que la identificación era imposible por su grado de deterioro o por la presencia de otras partículas que dificultaban su visión. Estos casos fueron incluidos en una categoría especial denominada “no identificado”.

5.5. Datos meteorológicos

Para la correlación con la meteorología se utilizaron los datos suministrados por la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) para el análisis de los datos diarios, mientras que para los datos horarios se utilizaron los datos de la estación meteorológica del tipo Davis Vantage Pro2 (**Fig. 12**) que se localizó a 2 m del captador y que suministró datos de temperatura, precipitación, humedad, dirección y velocidad del viento y radiación (**Tabla 2**).



Figura 12. Estación meteorológica ubicada cerca del captador.

Tabla 2. *Parámetros utilizados y unidad de medida.*

Parámetro meteorológico	Unidad de medida
Temperatura media (Tmed)	°C
Temperatura mínima (Tmin)	°C
Temperatura máxima (Tmax)	°C
Precipitación (Pp)	Mm
Humedad relativa (Hr)	%
Velocidad del viento (Vv)	m/s
Dirección del viento (Dv)	grados sexagesimales

5.6. Inventario y georreferenciación de la flora urbana

Se identificaron todos los ejemplares de las especies a estudiar a lo largo de toda la ciudad con ayuda de claves dicotómicas y en especial con ayuda del libro “*Vegetación y Flora de Extremadura*” (Devesa, 1995). Dichos ejemplares se georreferenciaron con la ayuda de sistemas de mapas en la web de acceso libre como Google maps® y Google Earth Pro® versión 7.3.2.

Las especies que se identificaron y georreferenciaron dentro de la ciudad de Badajoz fueron *Alnus glutinosa*, *Casuarina cunninghamiana*, *Cedrus atlantica*, *Cedrus deodara*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus macrocarpa*, *Cupressus sempervirens*, *Fraxinus angustifolia*, *Olea europaea*, *Platanus* sp., *Platycladus orientalis*, *Quercus faginea*, *Quercus pirenaica*, *Quercus robur*, *Quercus rotundifolia*, *Quercus suber* y *Ulmus pumila*.

5.7. Seguimiento fenológico

Para este apartado se ha seguido el sistema BBCH de fases fenológicas estandarizado y aceptado a nivel mundial. Para ello se consideraron cinco fenofases durante el periodo de fenología reproductiva de las especies estudiadas (**Fig. 13**, **Fig. 14** y **Fig. 15**). A su vez, se definieron en relación con el número de flores abiertas, considerando flores abiertas aquellas que mostraban estambres. Las cinco fenofases que siguieron el protocolo BBCH fueron:

- Fase 0 o de prefloración (BBCH 60) que comienza con la emergencia de la flor o estróbilo hasta el inicio de la floración.
- Fase 1 o de floración (BBCH 60 a 63), cuando se observan hasta un 25% de flores abiertas o estróbilos en el caso de las cupresáceas.
- Fase 2 o de plena floración (BBCH 63 a 67), comprende el periodo en el que existe de un 25% a un 75% de flores o estróbilos abiertos.
- Fase 3 o de final de floración (BBCH 67 a 69), en el que más del 75% de flores están abiertas o de los estróbilos abiertos y termina cuando las anteras han liberado el polen.
- Fase 4 o de fructificación (BBCH 69), cuando la polinización ha finalizado e iniciado el proceso de fructificación.

El seguimiento fenológico se hizo en tres puntos diferentes de la ciudad, el primero más cercano al captador volumétrico, el segundo dentro de la ciudad y el tercero en la periferia de la ciudad. Para cada zona de muestreo se eligieron al azar al menos cinco ejemplares por especie. La toma de datos se realizó con una periodicidad de cada tres días, eligiendo la fecha de inicio del seguimiento fenológico con base a la fecha de floración del año anterior. Las especies a las que se les hizo el seguimiento fenológico fueron: *Acer negundo*, *Alnus glutinosa*, *Avena sterilis*, *Casuarina cunninghamiana*, *Cedrus deodara*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus macrocarpa*, *Cupressocyparis leilandii*, *Cupressus sempervirens*, *Dactylis glomerata*, *Fraxinus angustifolia*, *Hyparrhenia hirta*, *Lolium* sp., *Olea europaea*, *Phalaris coerulescens*, *Pinus halapensis*, *Pinus pinea*, *Piptatherum milliaceum*, *Platanus* sp., *Platycladus orientalis*, *Quercus rotundifolia*, *Salix atrocinerea*, *Trisetum paniceum* y *Ulmus pumila*.



Figura 13. Ejemplificación de las fenofases en *Fraxinus angustifolia*.
A) Fase 0 B) Fase 1 C) Fase 2 D) Fase 3 y E) Fase 4.

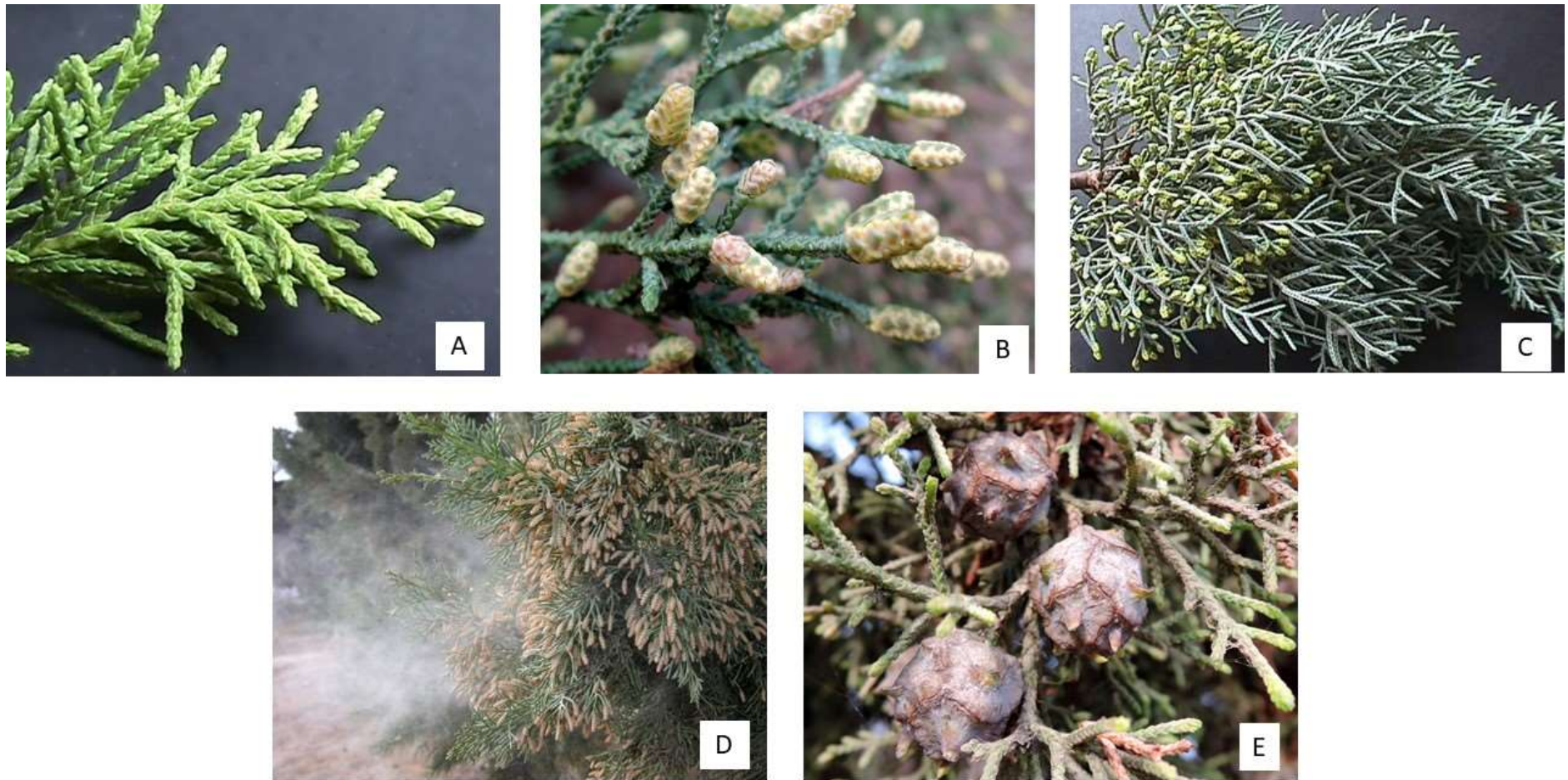


Figura 14. Ejemplificación de las fenofases en Cupressaceae.

A) Fase 0 B) Fase 1 C) Fase 2 D) Fase 3 y E) Fase 4.

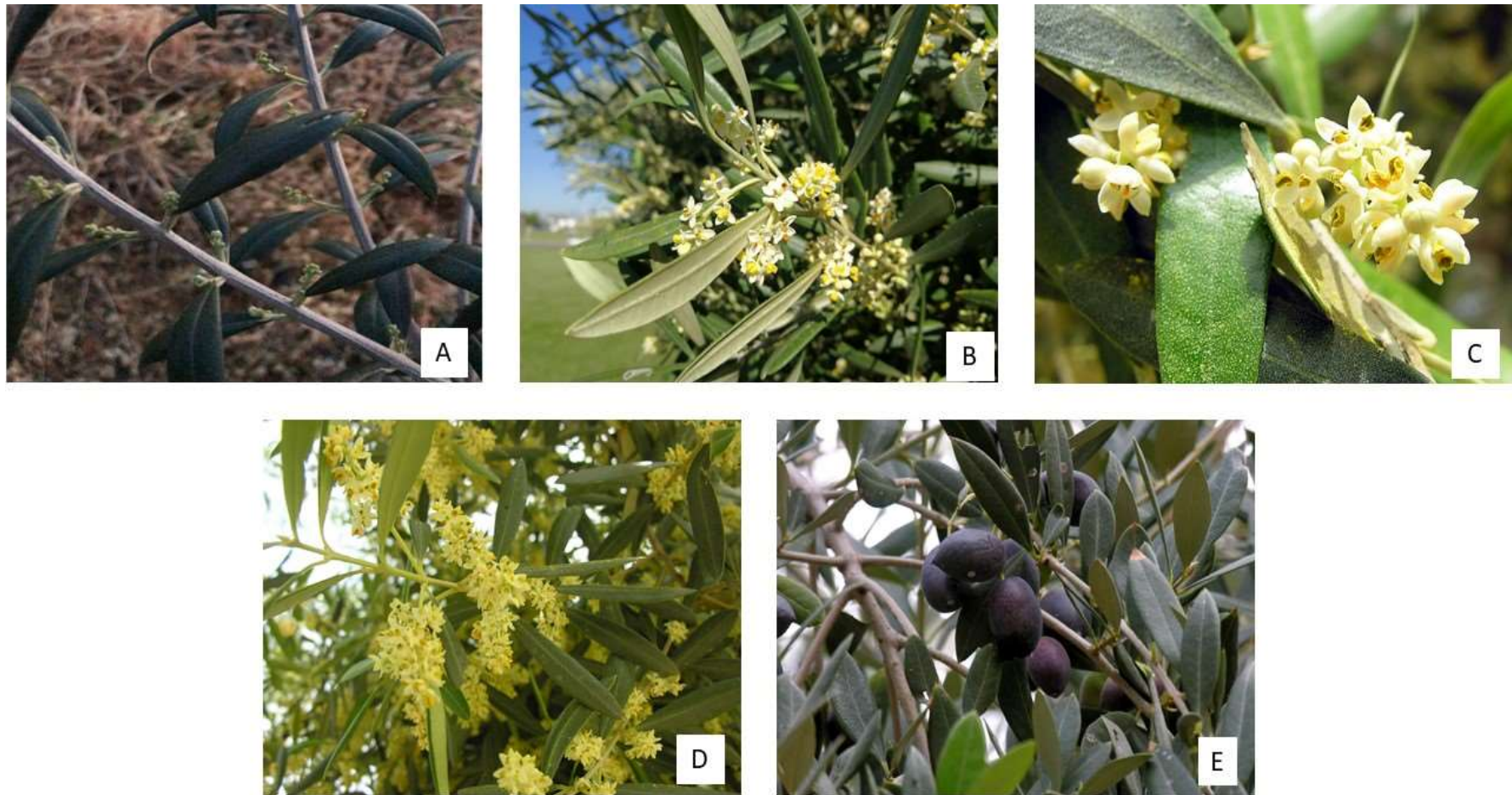


Figura 15. Ejemplificación de las fenofases en *Olea europaea*.

A) Fase 0 B) Fase 1 C) Fase 2 D) Fase 3 y E) Fase 4.

5.8. Modelos de dispersión

En el caso específico de *Olea*, para el que los episodios de media y larga distancia son considerados más frecuentes (Hernández-Ceballos *et. al.*, 2011; Fernández-Rodríguez *et. al.*, 2014), se analizaron los patrones de masas de aire llegando a la ciudad de Badajoz. Para ello se usó el modelo HYSPLIT (Draxler & Hess, 1998; Draxler & Rolph, 2014 & Rolph, 2014) tomando los datos meteorológicos GDAS con 0,5 grados de resolución de la *National Oceanic and Atmospheric Administration Air Resources Laboratory* (NOAA ARL) de Estados Unidos. Este modelo de dispersión suministra los datos meteorológicos para un área geográfica muy amplia (a nivel continental). Para poder estimar la potencial procedencia de las partículas contenidas en las masas de aire se estudió la presencia de partículas en una altitud de 0 a 4000 m. Para ello se utilizó un análisis de dispersión de las 24 horas previas a la hora fijada (aquella que coincidía con los máximos picos horarios, desde las 13:00 a 15:00 horas) durante dos días consecutivos previos al episodio, siguiendo la metodología de trabajos anteriores (De Weger *et. al.* 2015). Con esta metodología se pretende estudiar aquellos días con discrepancias entre el período de polinización principal y las fenofases durante los días de concentraciones máximas en 2017 y 2018.

5.9. Análisis estadístico

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el software SPSS 15.0 para Windows, utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov (por tener un $n > 40$ en todos los casos) para comprobar la normalidad en la distribución de las partículas aerovagantes, empleándose el siguiente contraste de hipótesis:

H_0 : Los datos provienen de una población normal.

H_1 : Los datos NO provienen de una población normal.

Si $\text{Sig} \leq 0,05$ (0,05 o 0,01) se rechazará H_0 .

Si $\text{Sig} > 0,05$ (0,05 o 0,01) se aceptará H_0 .

Debido a que se obtuvo un p -valor $< 0,05$, incluso después de la transformación logarítmica, se aplicó estadística no-paramétrica siguiendo los métodos habituales en Aerobiología (Alba *et. al.* 2000; Limpert *et. al.*, 2008).

Los cálculos acerca de las características del período de polinización principal, fecha de inicio, el día del pico de máximas concentraciones, fecha de final de la estación y la integral estacional de polen (SPIn) (Galán *et. al.*, 2017) fueron obtenidos con el software R (R Core Team, 2018) y con el paquete *AeRobiology* (Rojo *et. al.*, 2019).

Para las correlaciones entre las concentraciones diarias y horarias de polen y la meteorología se ha utilizado el coeficiente de correlación de Spearman, estableciendo dos niveles de significación:

- 95% de confianza, se señalará con * ($p \leq 0,05$).
- 99% de confianza, se señalará con ** ($p \leq 0,01$).

Al realizar el análisis de las correlaciones de los parámetros meteorológicos sobre la concentración atmosférica de los distintos tipos polínicos se ha trabajado con las concentraciones diarias dentro del periodo principal de polinización, ya que la presencia o ausencia de un tipo polínico en la atmósfera estará determinada por el momento fenológico de la planta y su ubicación (Monroy-Colín, *et. al.* 2020b). Por tanto, al incluir días en que la presencia es escasa o nula, o incluso a la hora de establecer que se entiende por el periodo principal de polinización se influye en los resultados del análisis (Jato *et al.*, 2006).

El periodo principal de polinización comprende la época del año en la que se encuentra suspendida en la atmósfera la mayor parte del polen emitido por un determinado tipo (Pathirane 1975; Lejoly & Leuschner 1983; Galán *et al.* 1991; Andersen 1991; Spieksma *et al.*, 1995; Jäger *et al.*, 1996; Fèher & Jarai-Komlodi 1997). Se ha seguido el método propuesto por Nilsson & Persson (1981). Dicho período comprende desde el momento en que la suma de la concentración diaria de cada tipo polínico alcanza el 5% del total anual hasta que llega al 95%, así se asegura de estudiar el espacio de tiempo en que presentará la mayor abundancia en la atmósfera. De esta manera se toma en cuenta el 90% del total de polen registrado.

6. Resultados

La **tabla 3** presenta datos generales del periodo de floración y del periodo principal de polinización. Así mismo, las **Figs. 16, 17 y 18** muestran los ejemplares georreferenciados en la ciudad de Badajoz de los tres tipos polínicos estudiados. El resto de los resultados se presentan en forma de capítulos, conteniendo cada capítulo los resultados del estudio y análisis de cada tipo polínico estudiado.

Tabla 3. Datos generales comparativos de *Fraxinus angustifolia*, *Olea europaea* y *Cupressaceae*.

		<i>Fraxinus angustifolia</i>	<i>Cupressaceae</i>	<i>Olea europaea</i>
Ejemplares contabilizados dentro de la ciudad		337	1275	2217
Periodo de la floración*		03 de diciembre a 29 de enero	06 de enero a 21 de marzo	08 de mayo a 29 de mayo
Promedio de la duración de la floración (días)*		29	38	29
Día de máximos fenológicos*		06 de enero	15 de febrero	15 de mayo
Periodo de la temporada de polen*		06 de diciembre a 31 de enero	06 de enero a 05 abril	07 de mayo a 10 de junio
Promedio de la duración de la temporada de polen (días)*		53	92	34
Pico de concentración máxima de la temporada de polen*	Día	21 de diciembre	19 de febrero	15 de mayo
	Granos de polen/m ³	65	354	1199.25
Integral estacional de polen* (SPIn**)	Polen*día/m ³	566	3501	9835
Valores horarios con mayor concentración de polen*		14:00 a 16:00	10:20 a 14:20	11:00 a 16:30
Valores horarios con menor concentración de polen*		22:00 a 09:00	19:40 a 06:20	22:30 a 08:15
Factores influyentes en la no-coincidencia de picos fenológicos con los picos polínicos.		Ubicación de la fuente de origen, precipitación y un muestreo incompleto.	Precipitación, humedad relativa y ubicación del captador.	Transporte a media-larga distancia y humedad relativa.

*Datos promedio durante el periodo de estudio.

**SPIn por sus siglas en inglés: *Seasonal pollen integral*



Figura 16. Ejemplares de *Fraxinus angustifolia* y ubicación del captador volumétrico dentro de la ciudad de Badajoz.
(En azul los ejemplares y en rojo el captador)

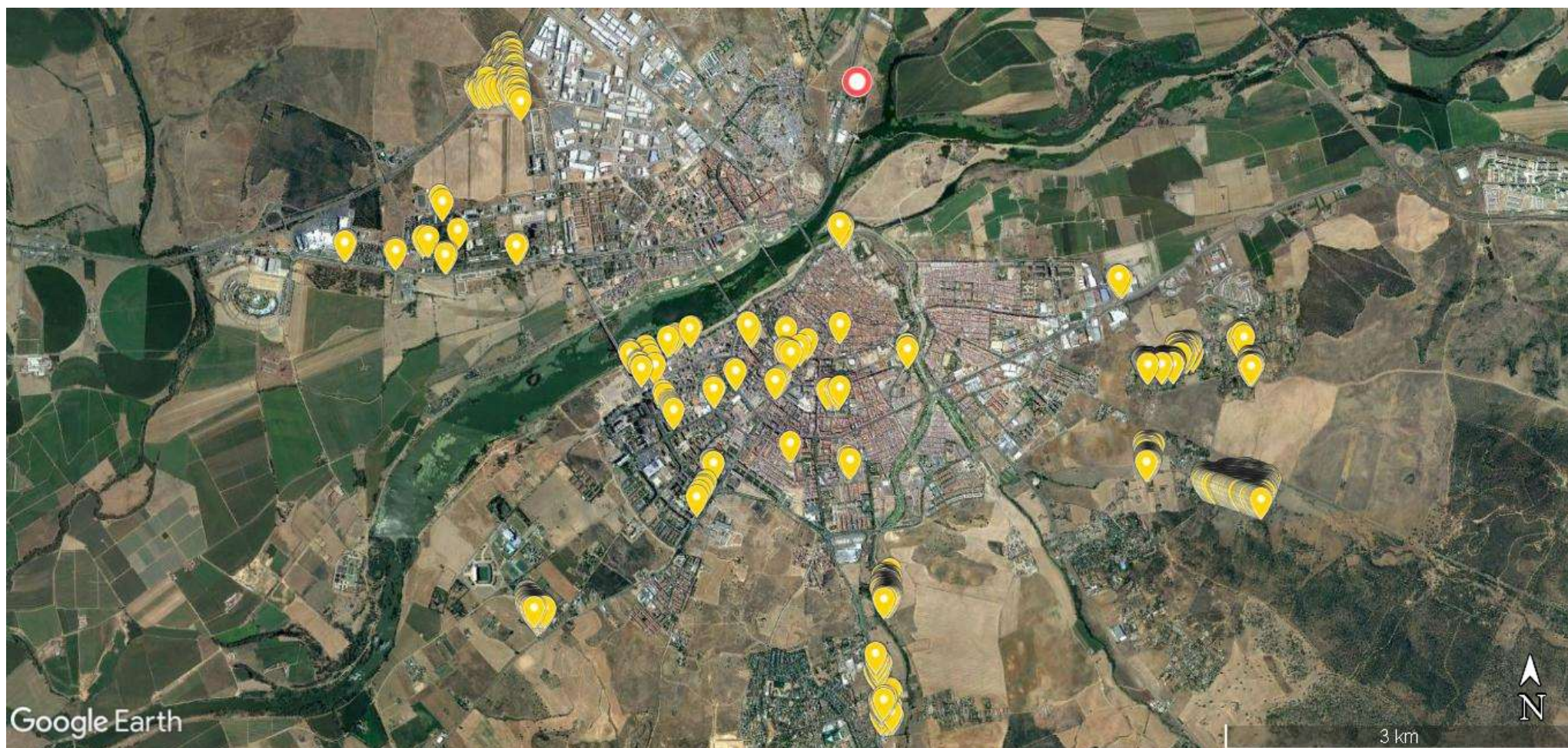


Figura 17. Ejemplares de *Olea europaea* y ubicación del captador volumétrico dentro de la ciudad de Badajoz.
(En amarillo los ejemplares y en rojo el captador)

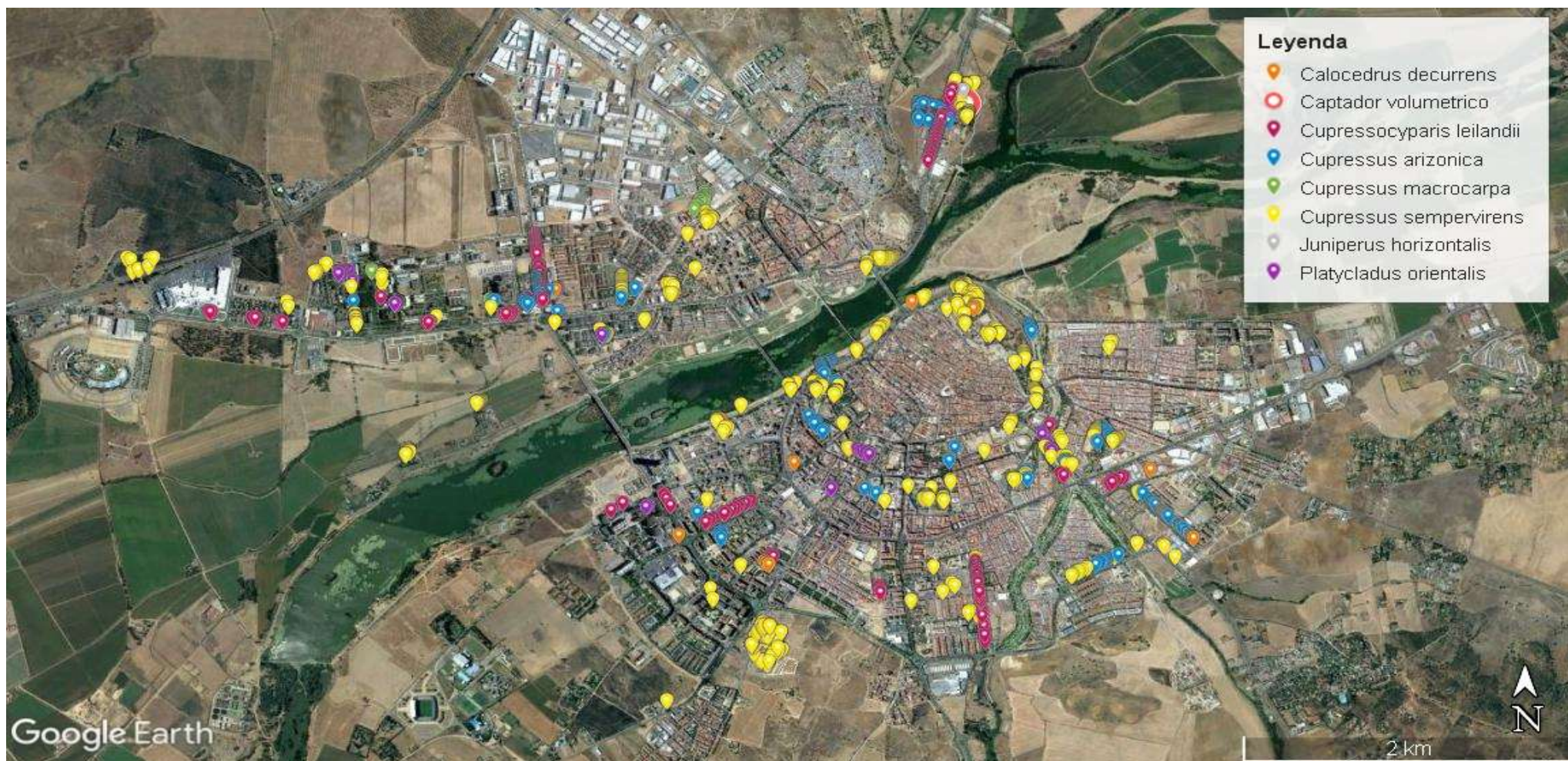







Figura 18. Ejemplares de Cupressaceae y ubicación del captador volumétrico dentro de la ciudad de Badajoz.

6.1. Capítulo I

*Environmental analysis of airborne pollen occurrence, pollen source distribution and phenology of *Fraxinus angustifolia**

Environmental analysis of airborne pollen occurrence, pollen source distribution and phenology of *Fraxinus angustifolia*

Alejandro Monroy-Colín  · Inmaculada Silva-Palacios · Rafael Tormo-Molina  ·
 José María Maya-Manzano  · Santiago Fernández Rodríguez  ·
 Ángela Gonzalo-Garijo 

Received: 26 October 2017 / Accepted: 26 February 2018 / Published online: 5 March 2018
 © Springer Science+Business Media B.V., part of Springer Nature 2018

Abstract Narrow-leaved ash (*Fraxinus angustifolia*) is a common polygamous tree growing on the banks of rivers in the western Mediterranean region. Pollination occurs during winter, and the tree's pollen is among the most abundant during that season. This work aims to relate the phenology of pollen shedding, source tree distribution, meteorology and airborne pollen occurrence for the species. Aerobiological sampling was conducted in Badajoz (south-western Spain) using a Hirst volumetric sampler over 24 years (1993–2016). Trees were geo-localized in a circle 500 m in diameter surrounding the pollen sampler. During the last two periods, pollination phenology was studied in 10 specimens, five in the surroundings of the pollen station and five 3 km apart, at a frequency of 3–4 days

on average. Moreover, a detailed analysis of pollen occurrence was conducted for these two periods. Daily data for the whole period and hourly data over the last 2 years were used, including pollen monitoring and meteorology. A comparison was made between pollen occurrence and source distribution. The main pollen season lasted on average 53 (28–75) days. Average values were less than 10 grains m^{-3} , except for two periods of 23–24 grains m^{-3} . Daily data and hourly data correlation with meteorology showed different signs in correlation analysis. Hourly analysis showed that the maximum concentration occurred just after noon. Most pollen was recorded at an average temperature of 9 °C. Analysis of pollen sources and pollen occurrence showed a close relationship between predominant wind directions and tree distribution. Peaks of phenology were not coincident with pollen peaks. No trends in pollination were found. Non-homogeneous distribution of pollen sources for *Fraxinus angustifolia* provided a suitable tool to demonstrate that wind direction plays a relevant role when aerobiological data are interpreted according to source distribution. A limitation in phenology analysis and aerobiological data was noted in the narrow-leaved ash species.

A. Monroy-Colín · R. Tormo-Molina (✉) ·
 J. M. Maya-Manzano
 Department of Plant Biology, Ecology and Earth
 Sciences, University of Extremadura, Avda. Elvas s/n,
 06071 Badajoz, Spain
 e-mail: ratormo@unex.es

I. Silva-Palacios
 Department of Applied Physics, University of
 Extremadura, 06006 Badajoz, Spain

S. F. Rodríguez
 Department of Construction, University of Extremadura,
 10003 Cáceres, Spain

Á. Gonzalo-Garijo
 Allergy Section, Infanta Cristina University Hospital,
 06080 Badajoz, Spain

Keywords Pollination · Narrow-leaved ash ·
 Aerobiology · Pollen source geo-location

1 Introduction

The genus *Fraxinus* includes mostly deciduous trees commonly named ashes. More than 40 species have been described, and they are distributed mainly in the Northern Hemisphere, mostly in North America and Eastern Asia (FRAXIGEN 2005). These trees are common in riverside forests in dryer regions and are elements of forests in humid zones, but they are also frequently planted as ornamentals in green urban areas (Wallander 2008). Flowers possess only two stamens emerging in most cases before the leaves unfold. There are a variety of pollination and breeding systems in *Fraxinus*. Approximately one-third of the species are entomophilous, and two-thirds are anemophilous. Most of the anemophilous species are dioecious or polygamous, and many species are morphologically androdioecious. This variety in breeding and pollination systems is a response to their biogeographic history during the Oligocene (Hinsinger et al. 2013).

In Western Europe, three species of *Fraxinus* occur naturally, and some are cultivated as ornamentals. On the Iberian Peninsula, *F. excelsior* grows north into the Eurosiberian Region and *F. angustifolia* occurs in the remainder of the area into the Mediterranean Region; both are polygamous and wind-pollinated trees. A third species, *F. ornus*, androdioic and insect-pollinated, appears mainly in east of Iberian Peninsula (Andrés 2012). For *F. angustifolia*, pollen production per tree was estimated to be approximately 100×10^9 , although it is among the species of Mediterranean trees with more variability (Tormo-Molina et al. 1996b). The relevance in vegetation for the European ash (*Fraxinus excelsior*) is highlighted by its relation to the dieback that threatens these forests (Pautasso et al. 2013), and the success of its reproductive biology is marked mainly by phenology (Bochenek 2011).

Although *Fraxinus* pollen sensitization is detected in patients with respiratory allergies (positive skin tests and/or specific IgE), the clinical relevance of this sensitization is not well established, and the interpretation of the results varies depending on the geographical area and exposure to other pollens of recognized allergenic importance (Hemmer et al. 2000; Niederberger et al. 2002; Poncet et al. 2010; Weber 2014). Data on the prevalence of sensitivity to ash are scarce. In fact, it is not clear whether ash pollen is a primary cause of sensitization or whether it is implied through cross-sensitization of other *Oleaceae*

pollens (as in the Mediterranean–temperate areas) or botanically unrelated plants, such as grasses and birch, due to the presence of pollen panallergens, such as profilins and polcalcins (D’Amato et al. 1998; Niederberger et al. 2002; Palomares et al. 2006; Poncet et al. 2010; Mas et al. 2014a). In a study conducted in 12 cities in Spain in 2003, no significant association was found between *Fraxinus* pollen concentrations and the prevalence of sensitization to *F. excelsior* (ranging from 8 to 56%) in patients with pollinosis (rhinoconjunctivitis and/or asthma) (Moral et al. 2016). Specific allergens have been described in species of *Fraxinus* with evident cross-reactivity with other pollens of the *Oleaceae* family (Barderas et al. 2005, 2006; Rodríguez-Rajo et al. 2010; Mas et al. 2014a, b; Robledo-Retama et al. Robledo-Retana et al. 2015; Torres et al. 2015).

Although for some authors, *Fraxinus* pollen rarely induces allergic respiratory symptoms in Europe (D’Amato et al. 2007), for other authors, the potential role of ash pollinosis may have been underestimated in some zones, such as the Middle European temperate zones, because of an overlapping pollination period with other trees such as birch and other species of the *Fagales* order. Hemmer et al. (2000) reported in eastern Austria that ash pollen should be considered a relevant allergen in spring pollinosis as, in all, only 20% of positive skin tests to ash appear to result from the cross-sensitization of pollen panallergens (Vara et al. 2016a). Moreover, an ash pollen allergy has been documented in areas without olive in central Europe such as Switzerland (Schmid-Grendelmeier 2012) and Alsace (France), where 18–34% of pollinosis could be attributed to ash pollen (Metz-Favre et al. 2010), as well as in Canada (Dales et al. 2008). Indirectly, the clinical relevance of allergen sensitization has been related to its presence in the atmosphere and drug use to treat symptoms related to this exposure. Thus, in a study in Brussels (Guilbert et al. 2016) and in others in central France (Fuhrman et al. 2007; Caillaud et al. 2015), the presence of *Fraxinus* pollen was associated with an increase in drug consumption to treat respiratory allergy symptoms. In contrast, in Spain, sensitization to *Fraxinus* pollen does not seem clinically relevant in areas of high exposure and sensitization to *Olea* pollen, such as Córdoba (Guerra et al. 1995), or in areas of moderate exposure, such as Navarra (García et al. 2011) or Galicia (Vara et al., 2016b).

One of the first aerobiological studies of *Fraxinus* airborne pollen was developed in Spain using a *Cour*

sampler (Candau et al. 1994). This study showed that dormancy of *F. angustifolia* occurs during the first week with the lowest mean temperature. Furthermore, one and a half or two months later, pollination occurs. Using volumetric Hirst (1952) samplers, Jato et al. (2004) analysed *Fraxinus* airborne pollen from Galicia (north-western Spain) for 5 years to determine the cold and heat required to trigger flowering.

Fraxinus pollen did not show a clear intradiurnal pattern. Pollen occurred in the air during the second half of the day with maximums in the early afternoon in Germany (Simoleit et al. 2016). Kasprzyk et al. (2004) analysed the pollen season of three pollen types, including *Fraxinus*, from seven places in Poland, concluding that regional differences in the start of pollen season in Poland did not exist. Moreover, Puc (2012) concluded after 7 years of study in Szczecin that 50% of the total daily pollen was noted at 14:00; furthermore, mean temperature, total radiation, air pressure, relative humidity and wind speed were the main factors influencing the intradiurnal pollen concentrations in the atmosphere.

Peeters (2000) analysed the meteorological conditions leading to the release of ash pollen in Zurich (Switzerland), concluding that a temperature below -2°C triggers the start of pollination.

Two-hour variations of *Fraxinus* pollen were analysed, and observations of the diurnal peak in the afternoon or even midnight in Bratislava (Slovakia) were noted (Ščevková et al. 2015).

Fraxinus pollen was the third airborne pollen in terms of relevance (Bicakci et al. 2017), showing that the start of pollination occurs at the end of the year in Turkey.

In Southern Hemisphere countries such as Argentina, *Fraxinus* pollen has been detected mainly over one month between September and October with a maximum concentration of more than 2000 grains/ m^3 and hourly pollen showing a maximum concentration between 10:00 and 14:00 (Nitiu and Mallo 2002; Nitiu et al. 2003). *Fraxinus americana* is a species present in Buenos Aires and is responsible for the high airborne pollen values there (Majas et al. 1992).

In México, Rocha-Estrada et al. (2008) and Calderón-Ezquerro et al. (2016) concluded that *Fraxinus*, represented by *F. uhdei*, had the largest amount of pollen with 28% of the total grains and that it was present in the area in sufficient quantities to be the

cause of allergic disorders in the human population, mainly during February.

In relation to trends in pollination, and according to a study in Europe of 23 pollen types with data over 10–20 years (Ziello et al. 2012), including that of *Fraxinus*, there seemed to be an increasing trend in the yearly amount of airborne pollen for many taxa in Europe, which was more pronounced in urban than in semi-rural/rural areas.

In relation to phenology, there are not many specific studies of the *Fraxinus* species, in spite of the close relationship between aerobiological studies and the global climate change effects on plants (Bruns et al. 2013; Galán et al. 2016; Carter et al. 2017) and fertilization (Bochenek and Eriksen 2011). One study for one year was developed in Mar del Plata, Argentina (Latorre and Bianchi 1998), and showed that floral phenophase development is not always synchronous between trees and that differences between species may be relevant. Thus, it was observed that *Fraxinus* pollen was recorded over a longer period after the *F. excelsior* flowering season had ended. A study performed in Austria over 22 years including *Fraxinus excelsior* (Bortenschlager and Bortenschlager 2005) showed that the flowering period started earlier and lasted longer and that the peak values in pollen production had increased.

This study aims to analyse the relationships between *Fraxinus* airborne pollen trends for a period of 22 years of monitoring with the distribution of pollen sources surrounding the sampler taking into account wind direction and phenology.

2 Materials and methods

2.1 Sampling site

This study was conducted in Badajoz, a city in south-western Spain, with approximately 149,949 inhabitants (NSI 2016). The city is 184 m above sea level and is crossed by the Guadiana River with the Gévorra River as effluent close to the city (Fig. 1). Irrigated crops (cornfields, fruit trees and other vegetables) and dried crops (wheat and oats) occur in the surrounding environment. Natural vegetation in the region includes Mediterranean forests of holm oak and cork oak, or their use as *dehesa* for livestock, and shrubs, grasses and other herbaceous plants such as *Cistaceae* sp.

Amaranthaceae sp., *Echium plantagineum* and *Plantago lanceolata*.

2.2 Planes of tree location

Fraxinus trees were explored during the period of this study in a circle 500 m in diameter surrounding the sampler, counted and geo-referenced on a map. They were counted separately according to sections of 30 degrees surrounding the spore trap. This area was selected because most of the trees surrounding the spore trap were in this area, and some previous studies had also been conducted in this area (Bricchi et al. 2000; Maya-Manzano et al. 2017a, b).

2.3 Aerobiological monitoring

Pollen grains were collected using spore traps (Hirst 1952). A trap was situated at 6 m height on the terrace of the Agricultural Engineering School of the University of Extremadura (38°53' N, 6°58' W). Standardized data management procedures for capturing and counting airborne pollen were used according to the Spanish Aerobiology Network (REA) (Galán et al. 2007) and the considerations of Tormo-Molina et al. (1996a, b, 2013). Pollen concentrations were expressed as the number of pollen grains per cubic metre of air (pollen grains m⁻³). The main pollen seasons (MPS) of *Fraxinus* were defined using the 90% method, whereby the season started when 5% of the total annual catch was achieved and ended when 95% was reached (Nilsson and Persson 1981). The period for calculation was November 1 to February 28, 121 days (2015–2016) and 120 days (2016–2017). The characteristics of the *Fraxinus* pollen season were described by the start and end dates of the airborne pollen season, the duration (number of days), the date and value of the maximum daily mean *Fraxinus* pollen concentration, and the sum of the daily average airborne *Fraxinus* pollen concentrations recorded during the season (Seasonal Pollen Integral—SPI) (Galán et al. 2017). The pollen-monitoring period was 1993–2016. There were no data for two periods (1994–1995 and 2001–2002) because the sampler did not work properly. During three additional periods, some days were lost; in this case, these periods were not used for MPS analysis.

Fig. 1 Ash tree distribution (red circles), with trees phenologically monitored (yellow squares) and distributed surrounding the spore trap (black star) within a circle of 500 m diameter divided every 30 degrees (see Table 2). Spore trap—EIA (black star) and university campus—UEX (blue star) in Badajoz

2.4 Meteorological data

The region has a Mediterranean climate affected by a degree of continentality, with an annual mean temperature for Badajoz of 17.1 °C. The highest temperatures occur during the summer, mainly during July and August. Average total annual precipitation reaches 447 mm. Prevailing winds are from the west in a region that has nearly flat topography (Silva-Palacios et al. 2007).

Meteorological data were provided by the National Meteorology Agency (AEMET) from a meteorological station at 38° 53' 15" N, 7° 0' 29" W, 3.75 km from the aerobiological sampler. For two periods (2015–2016 and 2016–2017), a portable meteorological station, two metres from the sampler, was used (Delta-T WS-GP1). The portable meteorological station data were recorded every 10 min, including temperature (°C), precipitation (mm), relative humidity (%), wind speed (m s⁻¹) and wind direction (degrees). To process wind direction data, 10-min values were transformed into 30° sections (12 values); for hourly and daily values, a statistical mode value was used; and for the remaining meteorological parameters, an average value was used except for precipitation, in which a sum was calculated.

2.5 Phenological observations

The phenology of pollen shedding was studied in 10 specimens over two periods (2015–2016 and 2016–2017). Five trees were selected surrounding the pollen station (EIA) and five 4 km away (UEX). Selected trees appear as yellow-coloured dots in Fig. 1. Observations were taken with a frequency of 3–4 days on average.

Phenological phases were recorded according to the BBCH code (Biologische Bundesanstalt, BUNDessortenamt, Chemische Industrie). This is an internationally recognized standard in the agricultural sector that classifies plant growth phases according to a standardized system (Meier 2001). For each tree,

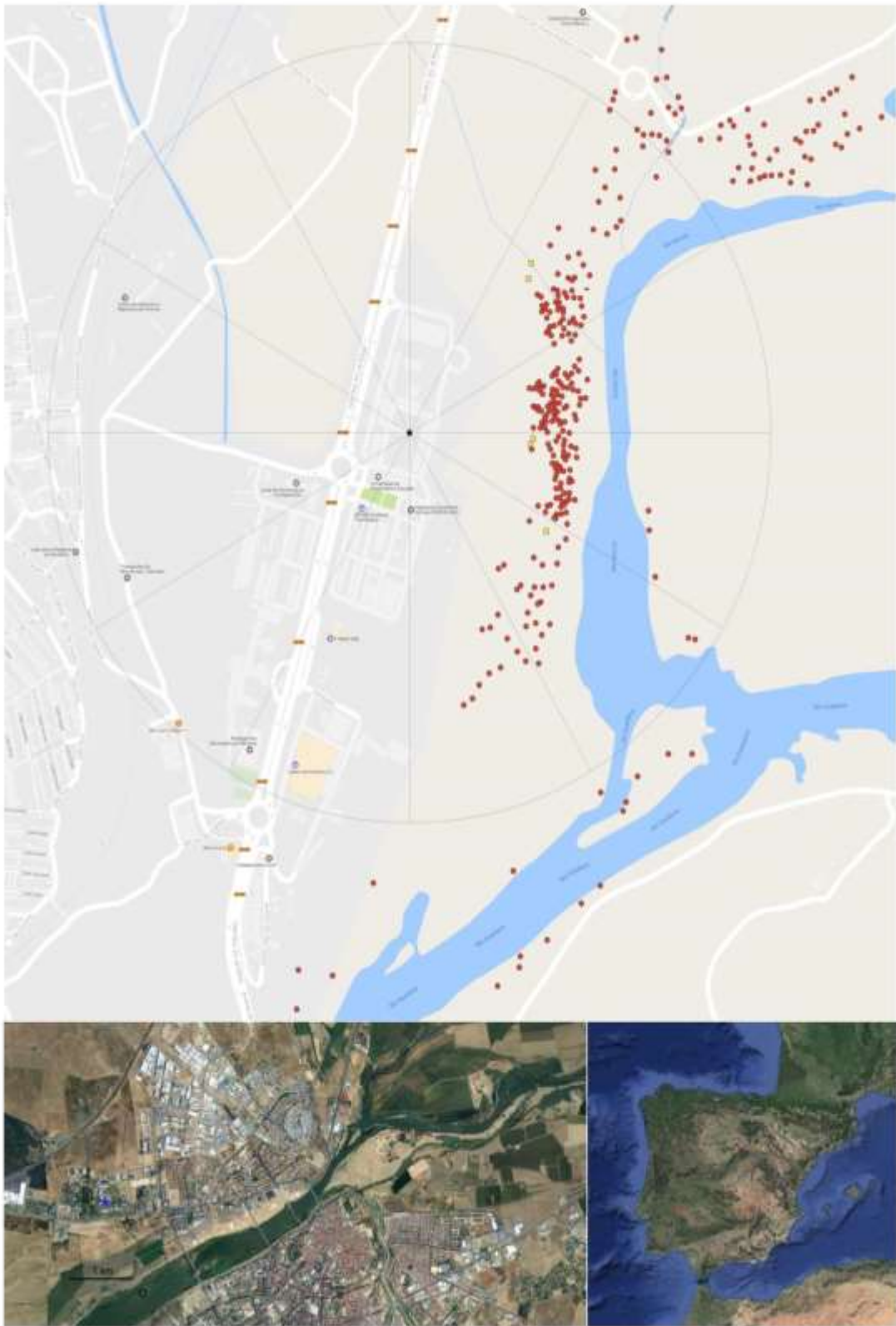


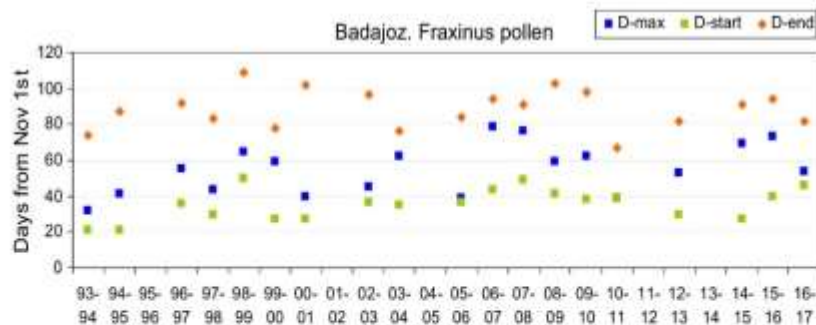
Table 1 Number of ash trees within a circle of 500 m diameter from the spore trap every 30 degrees (see Fig. 1)

Grades	Trees	Grades	Trees
0–29	0	180–209	0
30–59	69	210–239	0
60–89	78	240–269	0
90–119	56	270–299	0
120–149	27	300–329	0
150–179	11	330–359	0

pollen shedding was mechanically tested over 10 branches at 1.5–2 m height that were touched or shaken only on sunny days and with calm winds at noon. The percentage of pollen shedding was recorded from the beginning of flowering with 10% open flowers (BF, BBCH 61) up to full flowering (FF, BBCH 65, general flowering or full blossom), when at least approximately 50% of the flowers were open.

Table 2 Characteristics of the main pollen season (MPS) of *Fraxinus* pollen grains (grains m^{-3}). Ave (average daily concentration), max (maximum daily concentration), day max (maximum peak of day of the year), day start (day start of the MPS), day end (day end of the MPS), length (duration of the MPS), seasonal pollen integral (SPI)

	Ave	Max	Day max	Day start	Day end	Length	SPI
93–94	4.4	52	3–12	22–11	14–1	53	530
94–95	5.8	63	12–12	22–11	27–1	66	701
96–97	4.4	69	26–12	7–12	1–2	56	532
97–98	3.2	42	15–12	1–12	23–1	53	380
98–99	6.0	57	5–1	21–12	18–2	59	719
99–00	6.9	73	30–12	28–11	18–1	51	829
00–01	4.6	51	11–12	28–11	11–2	75	556
02–03	4.0	109	16–12	8–12	6–2	60	480
03–04	9.4	130	2–1	6–12	16–1	41	1141
05–06	23.9	129	10–12	8–12	24–1	47	2868
06–07	3.6	40	19–1	15–12	3–2	50	427
07–08	5.9	78	16–1	20–12	31–1	42	709
08–09	5.8	125	30–12	12–12	12–2	62	690
09–10	2.2	51	2–1	9–12	7–2	60	262
10–11	7.8	135	10–12	10–12	7–1	28	937
12–13	2.2	32	24–12	1–12	22–1	52	265
14–15	7.3	48	9–1	28–11	31–1	64	878
15–16	5.8	48	13–1	11–12	3–2	54	700
16–17	23.0	267	25–12	17–12	22–1	36	2760

**Fig. 2** MPS values of start, maximum and end of the period studied

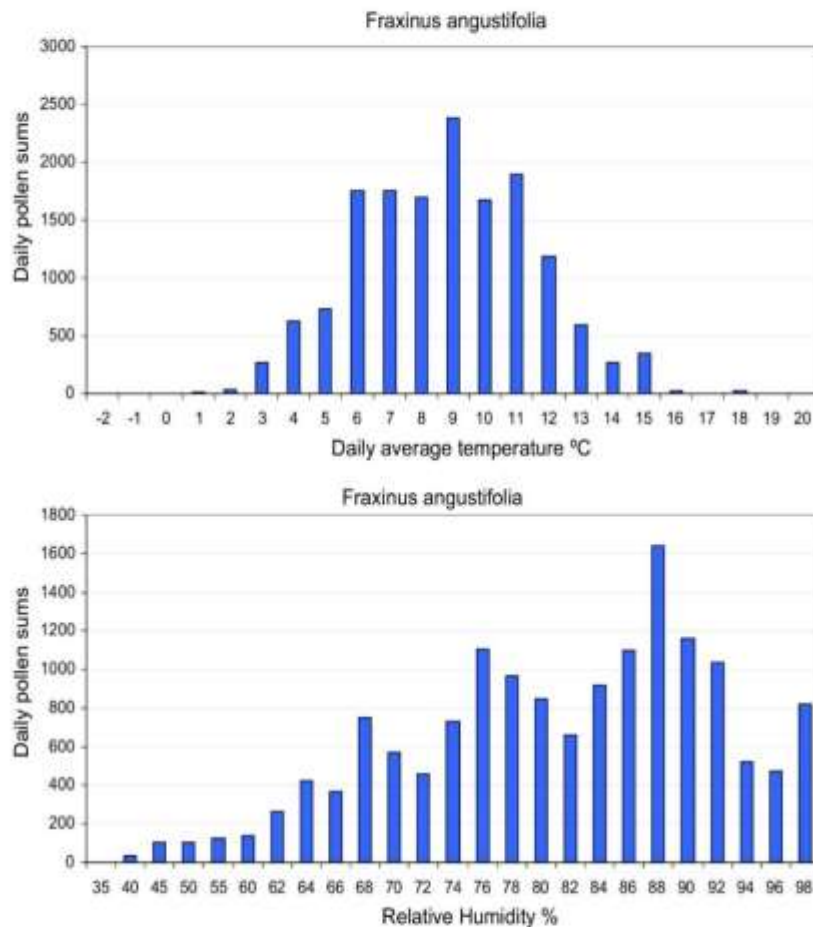


Fig. 3 Daily sums of pollen concentrations for average temperature and relative humidity

2.6 Statistical analysis

Daily data for the whole study period were used ($n = 2372$) together. A Spearman correlation test was used to analyse associations between pollen concentration and meteorological parameters (air temperature, precipitation, relative humidity and wind speed). For the last two years, more in-depth analysis using the hourly data was conducted ($n = 5784$). Statistical analysis was performed using the SPSS 15.0 statistical package. To analyse at what temperature most pollen was recorded, a graphical analysis was performed summing the daily pollen concentration for each average temperature. Data from the last two periods (2015–16 and 2016–17) were analysed in more detail using hourly data, and a graphical analysis comparing the sums of daily pollen concentration according to

temperature, relative humidity and wind direction for each of the 30 degrees was completed.

3 Results

Figure 1 shows the spore trap location and distribution of the surrounding narrow-leaved ash trees. A total of 241 trees were counted within a circle 500 m in diameter surrounding the spore trap. Most of the trees were towards the east (Table 1).

3.1 General data

Table 2 shows the average values of the MPS. Average concentration ranged from 2.2–9.4 grains m^{-3} , except for the winters of 2005–2006 and 2016–2017 with values of 23.9 and 23.0 pollen grains

Fig. 4 Daily data for the last two periods of 2015–2016 and 2016–2017: pollen concentration (pollen grains m^{-3}), temperature ($^{\circ}\text{C}$), precipitation (mm) and pollination phenology (%) for the two areas studied (EIA Agrarian Engineering School and UEx Campus University of Extremadura)

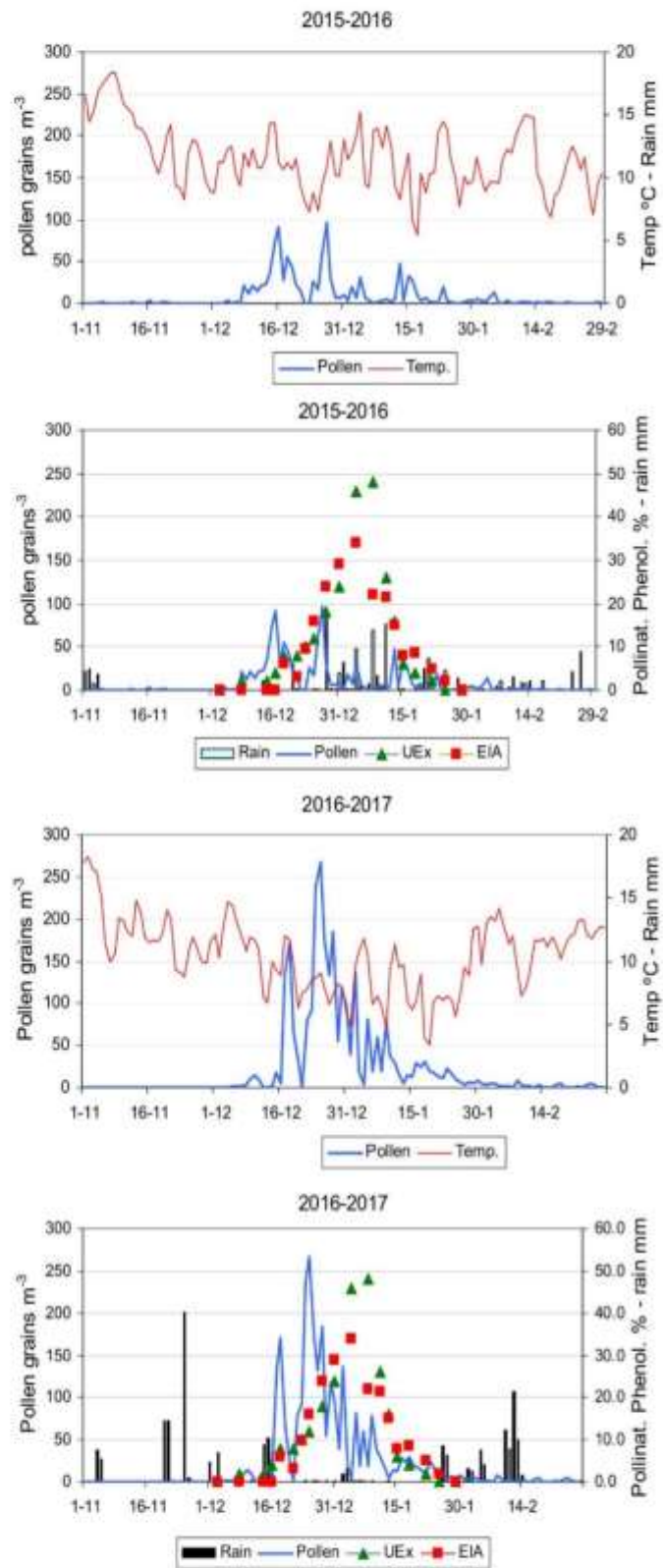
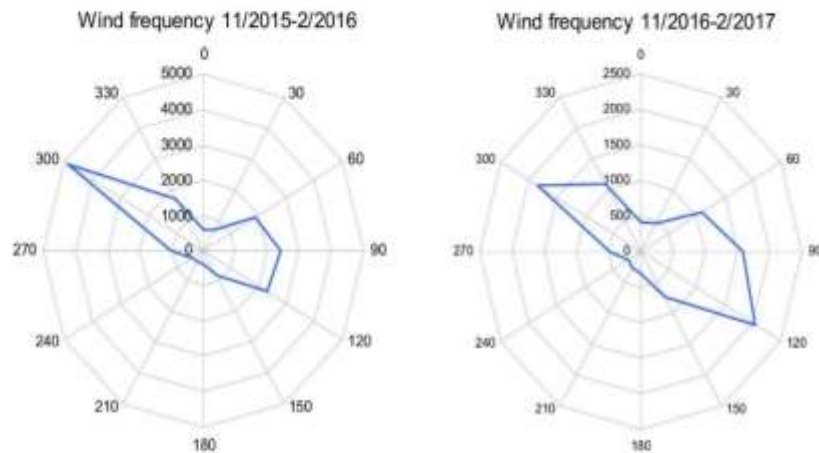


Fig. 5 Wind frequency from the period studied calculated from records every 10 min ($n = 17,424$ left, $n = 17,280$ right)



m^{-3} , respectively. The peak of maximum concentration exceeded 100 pollen grains m^{-3} during six periods, with the highest value being 267 pollen grains m^{-3} (25/12/2017). The MPS season lasted 53 days on average, ranging from 28 to 75 days; the MPS start ranged from 22/11 to 21/12, and the MPS end ranged from 14/1 to 18/2. No trend was found within the MPS (Fig. 2).

3.2 Daily data

Daily *Fraxinus* pollen concentration showed a statistically significant negative correlation with temperature (T_{\min} $r = -0.190$ $p < 0.001$, T_{\max} $r = -0.204$ $p < 0.001$, T_{med} $r = -0.229$), precipitation ($r = -0.079$ $p < 0.001$) and wind speed ($r = -0.075$ $p < 0.001$). There was also a positive significant correlation with relative humidity ($r = 0.073$ $p < 0.001$). Most pollen was recorded at an average temperature of 9 °C and with a relative humidity of 88% (Fig. 3).

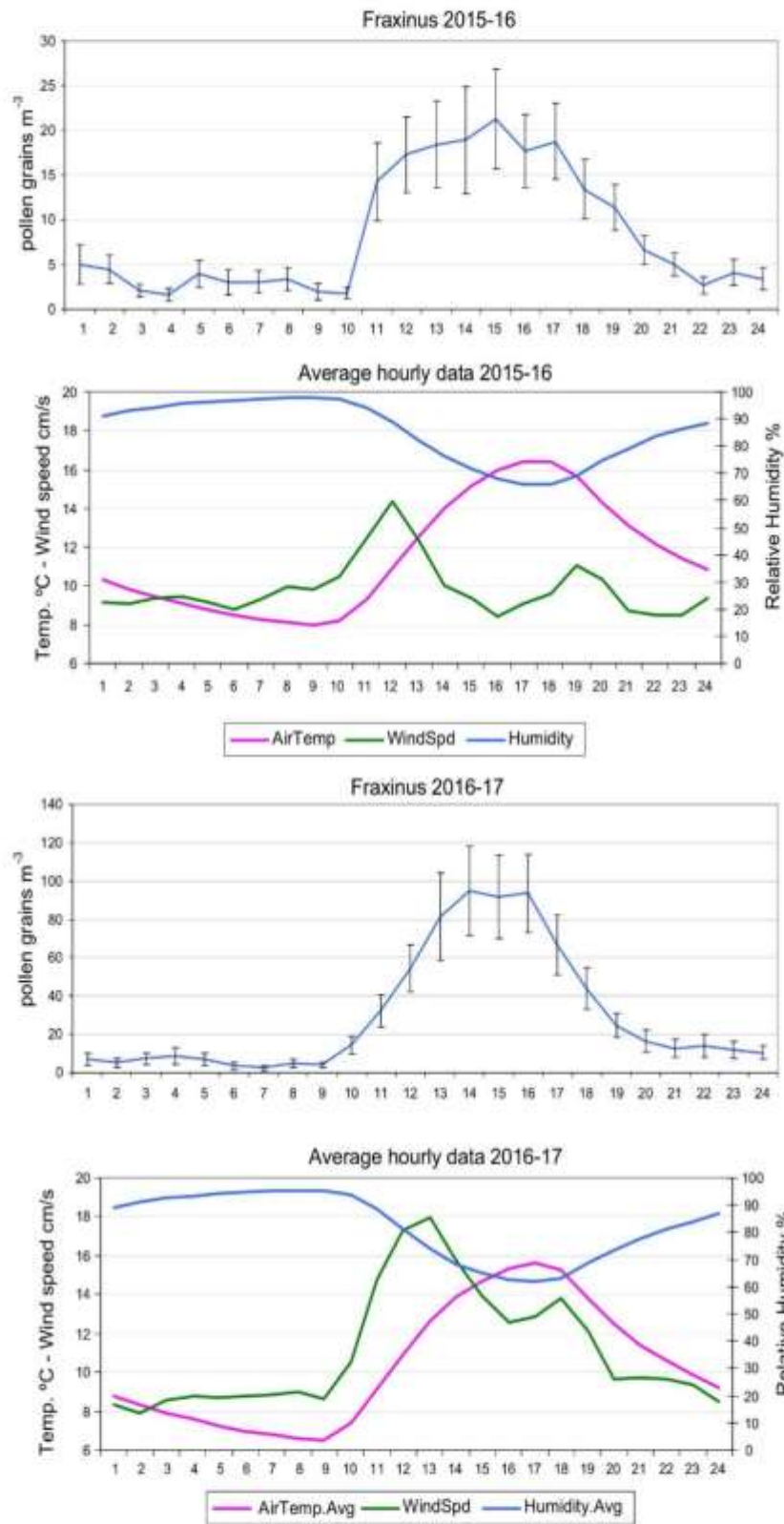
Figure 4 shows daily *Fraxinus* concentrations for the two periods (2015–2016 and 2016–2017), including pollen concentration, temperature, precipitation and pollination phenological observations. The pollen peak reached 96 pollen grains m^{-3} (27/12/2015) and 238 pollen grains m^{-3} (24/12/2016) during the two periods. During the first period, precipitation accumulated to 155 mm (54 days) and occurred mainly during December and January; for the second period, precipitation accumulated to 216 mm (46 days) and occurred mainly during November and February.

Pollination phenology started at the same time that pollen was recorded, and after the end of pollen dispersal, it was recorded at a very low concentration. Both phenologically studied locations showed quite similar patterns although peaks did not show coincidence with airborne pollen occurrence.

3.3 Hourly data

Hourly *Fraxinus* concentration for the last two periods showed a statistically negative significant correlation with relative humidity ($r = -0.210$ $p < 0.001$) and precipitation ($r = -0.079$ $p < 0.001$) and a significant positive correlation with temperature ($r = 0.058$ $p < 0.001$) and wind speed ($r = 0.059$ $p < 0.001$). In relation to wind directions, winds were predominantly from the WNW and then from the ESE, and both periods were quite similar in this regard (Fig. 5).

Figure 6 shows hourly concentration for the last two periods. The highest values appeared between 14:00 and 16:00, and the lowest appeared between 22:00 and 09:00. The increase during the morning is more pronounced than the decrease during the evening. By contrast, sums of hourly pollen concentration depending on wind direction according to 30-degree sections were calculated (Fig. 7). Most of the airborne pollen was recorded when the wind blew from the 90–120 degrees, which is coincident with location of the majority of trees.



◀ **Fig. 6** Hourly data for *Fraxinus* pollen concentration, including error bars and average meteorological parameters

4 Discussion

Narrow-leaved ash (*Fraxinus angustifolia*) is the most precocious tree species pollinating during the year, as it sheds pollen at the beginning of winter. In our study, pollen reached peak concentrations higher than those observed in Seville, Spain (Candau et al. 1994), but lower than La Plata, Argentina (Nitiu and Mallo 2002; Nitiu et al. 2003), and Zurich, Switzerland (Peeters 1998). Nevertheless, in the first case, a Cour sampler was used, and in the second, other species were present. Our results were similar to those of Kasprzyk et al. (2004) in Poland and Bicaçci et al. (2017) in Turkey.

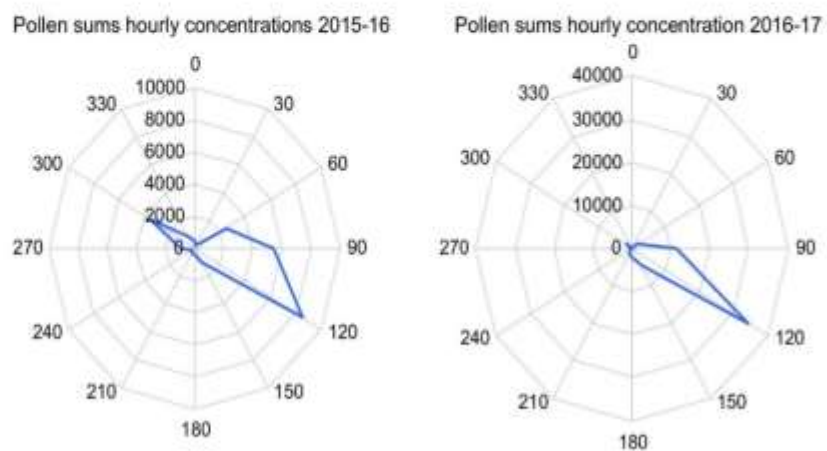
In the western Mediterranean region, narrow-leaved ash trees are common along river banks but sometimes are cultivated as ornamentals. In the first case, only when natural vegetation is conserved do these trees appear. This means that water stress should not be a factor that affects pollination, and it may depend largely on temperature. Our results showed that the best meteorological parameters linked to high pollen shedding were when daily temperature reached 9 °C. We observed a coincidence of the main pollination with the period of the year with average temperature ranges between 6° and 11° C (December–January).

The pollen season's start has been related to frost periods. For *Fraxinus excelsior* (Peeters 1998), this season occurs when the absolute minimum temperature is less than or equal to −2 °C. Comparable results

were obtained by Jato et al. (2004) in the north-western Iberian Peninsula: the accumulated cold in November determined the heat requirements and the start of pollen season and maximum pollen concentrations were captured during the end of January or the beginning of February. Nevertheless, these results do not coincide with those found in our study of *Fraxinus angustifolia*. The MPS start occurred between the end of November and the beginning of December, when the lowest temperatures had not yet been reached, similar to the conclusions found by Bicaçci et al. (2017) in Turkey. These results may suggest that the photoperiodic signal that activates flowering in *Fraxinus* is close to the flowering date inasmuch as the effect of cold is not clear.

No statistically significant trends were observed in the MPS during the studied years; this may be in consonance with Kasprzyk et al. (2004), whose results did not find latitudinal differences in the main pollen season in Poland, although Ziello et al. (2012) found a pollen concentration increase in several places in Europe. This is because these trees are more independent of water stress, as they always grow in humid environments. By contrast, a study in Spain showed positive trends for *Fraxinus* airborne pollen in some places (Galán et al. 2016), and in the USA, *Fraxinus americana* showed a marked influence in leaf emergence phenology in relation to extremely warm years (Carter et al. 2017). However, we obtained a significant correlation with meteorological parameters, although with different signs depending on the use of daily or hourly data. Daily data showed a negative correlation with temperature and a positive correlation with relative humidity, as obtained by Calderón-

Fig. 7 Pollen sums from hourly concentration according to wind direction



Ezquerro et al. (2016), but hourly data showed the opposite. These results may be because pollination phenology occurs when daily temperatures are decreasing, and this is shown by the correlation with daily data. Nevertheless, during the pollination period, the pollen is really shedding and flying when the hourly temperature reaches approximately 12 °C, around noon. Similar results were also obtained by Ščevková et al. (2015) and Calderón-Ezquerro et al. (2016). In addition, this is time when winds showed their highest values (Fig. 6). These paradoxical results are a consequence of the time-level analysis because seasonal phenology is observed by daily data, but pollination and pollen records are observed as hourly phenomena dependent on hourly environmental conditions. We have to emphasize that hourly pollen distribution showed a neat pattern over the two last periods analysed that was similar to the hourly temperature distribution, which contrasts with the results of Simoleit et al. (2016) in Germany and Pérez-Badía et al. (2010) in Spain (Toledo) but is in accordance with Puc (2012) in Poland, Ščevková et al. (2015) in Slovakia, and Nitiu and Mallo (2002) and Nitiu et al. (2003) in Argentina.

The analysis of pollen source location and pollen records according to wind direction (Figs. 5 and 7) reflected a close relation between ash tree distribution surrounding spore traps and wind transporting airborne pollen. Although winds are predominantly in a NW–SE direction, practically all *Fraxinus* pollen grains were recorded when the wind blew from the SE (in spite of being in an E or NE direction where ash trees are more abundant, Fig. 1). These results support the relevance of a close-source location and winds transporting the pollen in the aerobiological records using Hirst spore traps (Silva-Palacios et al. 2007; Fernández-Rodríguez et al. 2014). Another factor can be deduced considering the predominant wind direction, the location of the trap and the pollen source distribution. There are no sources for this pollen type when the wind blows from the W. This could lead to underestimation of the airborne *Fraxinus* pollen concentrations that actually are present in the atmosphere, as the spore trap location with respect to the predominant wind direction is an essential point to be considered in aerobiological studies (Maya-Manzano et al. 2017a, b).

Both phenologically analysed locations (natural and ornamental river banks) showed similar results.

This may be because both showed an absence of water stress, as the ornamental locations were artificially watered even during summer. Correspondence between phenology and pollen occurrence showed a similar start but an earlier ending for phenology as compared to that of the pollen records, similar to the results obtained by Bortenschlager and Bortenschlager (2005). Nevertheless, pollen peaks did not show correspondence with phenology peaks. With respect to the two last periods more comprehensively analysed, in the first, this would be a consequence of precipitation distribution, which could have resulted in air cleansing, but in the second period, there is a clear delay of pollination phenology of approximately 10–15 days with respect to pollen occurrence. It could be alleged that these results for pollen records reflect long-distance pollen transport; however, our results from source location analysis showed that close trees within a 500-m-diameter circle surrounding the spore trap may have been responsible for the most pollen recorded. This may be a consequence of the fact that phenology records were obtained for branches at 1.5–2 m height to obtain accurate results, and the top branches escaped recording. Another explanation of the results may be the distribution of phenologically observed trees because not all were in the main wind direction. We observed that the top branches of the tree were not exactly synchronized with the bottom branches. Differences in phenology have been found among trees depending on age (Augspurger and Bartlett 2003) or even among branches of the same tree, especially in deciduous trees (Osada et al. 2005). Moreover, in Argentina, a synchronicity between the phenology of trees was not found (Latorre and Bianchi 1998). However, this issue requires further study to assess this possible explanation. To these variations, variations may be added in relation to altitude and latitude (Damialis et al. 2011, 2017). We should have also considered that not all of the whole pollen grains that were recorded came from sources located in the direction from which the prevailing winds blow. Wind dynamics are a complex process, and we obtained limited information to produce definitive conclusions with only one pollen record point.

5 Conclusions

For narrow-leaved ash (*Fraxinus angustifolia*), no statistically significant trend in pollination was found, and this may be because their ecology is more independent of water stress. Although seasonal analysis showed a negative correlation between pollination and temperature, hourly data showed a clear direct dependence on temperature for pollen shedding. It has been observed that pollination in these trees occurs close to the cooler period of the year but during the warmer hours of those days. We showed that the analysis of pollen source distribution and wind origin is relevant to interpreting *Fraxinus angustifolia* airborne pollen occurrence. Nevertheless, the phenology of pollination may not be in accordance with the pollen peaks and pollination peaks, and this may be related to the methodology of phenology recording.

Acknowledgements This work was made possible by research projects PRI06A190, PRI BS10008, GR15060, IB16029 financed by the Regional Government, Junta de Extremadura (Spain) and the European Regional Development Fund.

References

- Andrés, C. (2012). *Fraxinus* in *Flora Iberica*. Real Jardín Botánico de Madrid, CSIC.
- Augsburger, C. K., & Bartlett, E. A. (2003). Differences in leaf phenology between juvenile and adult trees in a temperate deciduous forest. *Tree Physiology*, 23, 517–525.
- Barderas, R., Purohit, A., Papanikolaou, I., Rodríguez, R., Pauli, G., & Villalba, M. (2005). Cloning, expression, and clinical significance of the major allergen from ash pollen, Fra e 1. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115, 351–357.
- Barderas, R., Purohit, A., Rodríguez, R., Pauli, G., & Villalba, M. (2006). Isolation of the main allergen Fra e 1 from ash (*Fraxinus excelsior*) pollen: comparison of the natural and recombinant forms. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 96, 557–563.
- Bicakci, A., Tosunoglu, A., Altunoglu, M. K., Saatcioglu, G., Keser, A. M., & Ozgokce, F. (2017). An aeropalynological survey in the city of Van, a high altitudinal region. *East Anatolia-Turkey Aerobiologia*, 33, 93–108. <https://doi.org/10.1007/s10453-016-9453-3>.
- Bochenek, G. (2011). Reproductive Biology and Population Genetics of Common Ash (*Fraxinus excelsior* L.). University of Gothenburg, Sweden. ISBN 978-91-628-8247-1
- Bochenek, G. M., & Eriksen, B. (2011). First come, first served: Delayed fertilization does not enhance pollen competition in a wind-pollinated tree, *Fraxinus excelsior* L. (Oleaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 172, 60–69.
- Bortenschlager, B., & Bortenschlager, I. (2005). Altering airborne pollen concentrations due to the Global Warming. A comparative analysis of airborne pollen records from Innsbruck and Obergurgl (Austria) for the period 1980–2001. *Grana*, 44, 172–180.
- Bricchi, E., Frenguelli, G., & Mincigrucci, G. (2000). Experimental results about *Platanus* pollen deposition. *Aerobiologia*, 16(3–4), 347–352.
- Bruns, E., Chmielewski, F. M., VanVliet, A. J. H. (2013). The global phenological monitoring. In M. Schwartz (Ed.) *Phenology: An integrative environmental science*. 2.6, 1–12. Berlin: Springer
- Caillaud, D. M., Martin, S., Ségala, C., Vidal, P., Lecadet, J., Pellier, S., et al. (2015). Airborne pollen levels and drug consumption for seasonal allergic rhinoconjunctivitis: a 10-year study in France. *Allergy*, 70, 99–106.
- Calderón-Ezquerro, M. C., Guerrero-Guerra, C., Martínez-López, B., Fuentes-Rojas, F., Téllez-Unzueta, F., López-Espinoza, E. D., et al. (2016). First airborne pollen calendar for Mexico City and its relationship with bioclimatic factors. *Aerobiologia*, 32, 225–244. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9392-4>.
- Candau, P., González-Minero, F., & Romero, F. (1994). Aeropalynology of *Fraxinus* (ASH) in an urban area of southwestern Spain. *Aerobiologia*, 10, 47–51.
- Carter, J. M., Orive, M. E., Gerhart, L. M., Stern, J. H., Marchin, R. M., Nagel, J., et al. (2017). Warmest extreme year in US history alters thermal requirements for tree phenology. *Oecologia*, 183, 1197–1210.
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., et al. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62, 976–990.
- D'Amato, G., Mullis, J., Noland, N., Spiekma, F. T. M., & Wachter, R. (1998). City spore concentrations in the European Economic Community (EEC). VII Oleaceae (*Fraxinus*, *Ligustrum*, *Olea*). *Clinical Allergy*, 18, 541–547.
- Dales, R. E., Cakmak, S., Judek, S., & Coates, F. (2008). Tree pollen and hospitalization for asthma in urban Canada. *International Archives of Allergy and Immunology*, 146, 241–247.
- Damialis, A., Fotiou, C., Halley, J. M., & Vokou, D. (2011). Effects of environmental factors on pollen production in anemophilous woody species. *Trees*, 25, 253. <https://doi.org/10.1007/s00468-010-0502-1>.
- Damialis, A., Kaimakamis, E., Konoglou, M., Akritidis, I., Traidl-Hoffmann, C., & Gioulekas, D. (2017). Estimating the abundance of airborne pollen and fungal spores at variable elevations using an aircraft: How high can they fly? *Scientific Reports*, 7, 44535. <https://doi.org/10.1038/srep44535>.
- Fernández-Rodríguez, S., Ambelas-Skjøth, C., Tormo-Molina, R., Brandao, R., Caeiro, E., Silva-Palacios, I., et al. (2014). Identification of potential sources of airborne Olea pollen in the Southwest Iberian Peninsula. *International Journal of Biometeorology*, 58, 337–348.
- FRAXIGEN (2005). *Ash species in Europe: biological characteristics and practical guidelines for sustainable use*. Oxford Forestry Institute, University of Oxford, UK.

- 128 pp. ISBN: 085074 163 7. http://herbaria-old.plants.ox.ac.uk/fraxigen/pdfs_and_docs/book/fraxigen_c1toc3.pdf
- Fuhrman, C., Sarter, H., Thibaudon, M., Delmas, M. C., Zeghnoun, A., Lecadet, J., et al. (2007). Short-term effect of pollen exposure on antiallergic drug consumption. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 99, 225–231.
- Galán, C., Alcázar, P., Oteros, J., García-Mozo, H., Aira, M. J., Belmonte, J., et al. (2016). Airborne pollen trends in the Iberian Peninsula. *Science of the Total Environment*, 550, 53–59.
- Galán, C., Ariatti, A., Bonini, M., Clot, B., Crouzy, B., Dahl, A., et al. (2017). Recommended terminology for aerobiological studies. *Aerobiologia*, 33, 293–295.
- Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., & Domínguez-Vilches, E. (2007). Spanish Aerobiology Network (REA) *Management and quality manual*. Servicio de Publicaciones Universidad de Córdoba. ISBN 978-84-690-6353-6358
- García, B. E., Lizaso, M. T., Moreno, C., Rodríguez, R., Villalba, M. T., Ledesma, A., et al. (2011). Oleaceae-induced pollinosis in an area with exposure to olive and ash trees. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 21, 34–37.
- Guerra, F., Carmen, C. G., Daza, J. C., Miguel, R., Moreno, C., González, J., et al. (1995). Study of sensitivity to the pollen of *Fraxinus* spp. (Oleaceae) in Cordoba, Spain. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 5, 166–170.
- Guilbert, A., Simons, K., Hoebeke, L., Packeu, A., Hendrickx, M., De Cremer, K., et al. (2016). Short-term effect of pollen and spore exposure on allergy morbidity in the Brussels-Capital Region. *EcoHealth*, 13, 303–315.
- Hemmer, W., Focke, M., Wantke, F., Gotz, M., Jarisch, R., Jager, S., et al. (2000). Ash (*Fraxinus excelsior*)-pollen allergy in central Europe: specific role of pollen panallergens and the major allergen of ash pollen, Fra e 1. *Allergy*, 55, 923–930. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2000.00671.x>.
- Hinsinger, D. D., Basak, J., Gaudeul, M., Cruaud, C., Bertolino, P., Frascaria-Lacoste, N., et al. (2013). The phylogeny and biogeographic history of ashes (*Fraxinus*, Oleaceae) highlight the roles of migration and vicariance in the diversification of temperate trees. *PLoS ONE*, 8(11), e80431. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080431>.
- Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39, 257–265.
- Jato, V., Rodríguez-Rajo, J., Dacosta, N., & Aira, M. (2004). Heat and chill requirements of *Fraxinus* flowering in Galicia (NW Spain). *Grana*, 43, 217–223.
- Kasprzyk, I., Uruska, A., Szczepanek, K., Latalowa, M., Gawel, J., Harmata, K., et al. (2004). Regional differentiation in the dynamics of the pollen seasons of *Alnus*, *Corylus* and *Fraxinus* in Poland (preliminary results). *Aerobiologia*, 20, 141–151.
- Latorre, F., & Bianchi, M. M. (1998). Relationships between flowering development of *Ulmus pumila* and *Fraxinus excelsior* and their airborne pollen. *Grana*, 37, 233–238.
- Majas, F. J., Noetinger, M., & Romero, E. J. (1992). Airborne pollen and spores monitoring in Buenos Aires City: a preliminary report. Part I. Trees and shrubs (AP). *Aerobiologia*, 8, 285–296.
- Mas, S., Garrido-Arandia, M., Batanero, E., Purohit, A., Pauli, G., Rodríguez, R., et al. (2014a). Characterization of profilin and polcalcin panallergens from ash pollen. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 24, 257–266.
- Mas, S., Torres, M., Garrido-Arandia, M., Salamanca, G., Castro, L., Barral, P., et al. (2014b). Ash pollen immunoproteomics: identification, immunologic characterization, and sequencing of 6 new allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133, 923–926.
- Maya-Manzano, J. M., Fernández-Rodríguez, S., Monroy-Colín, A., Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., & Gonzalo-Garjón, A. (2017a). Allergenic pollen of ornamental Plane trees in a Mediterranean environment and urban planning as a prevention tool. *Urban Forestry & Urban Greening*, 27, 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2017.09.009>.
- Maya-Manzano, J. M., Sadyś, M., Tormo-Molina, R., Fernández-Rodríguez, S., Oteros, J., Silva-Palacios, I., et al. (2017b). Relationships between airborne pollen grains, wind direction and land cover using GIS and circular statistics. *Science of the Total Environment*, 584, 603–613. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.085>.
- Meier, U. (2001). Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. In 2nd Ed. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. <http://pub.jki.bund.de/index.php/BBCH/article/view/461>
- Metz-Favre, C., Papanikolaou, I., Purohit, A., Pauli, G., & de Blay, F. (2010). The reality of ash pollinosis. *Revue Française d'Allergologie*, 50, 568–573.
- Moral de Gregorio, A., Senent-Sánchez, C. J., García-Gómez, E., & Pérez-Badía, R. (2016). Familia Oleaceae. In C. J. Senent-Sánchez, A. Moral de Gregorio, E. García-Gómez, & R. Pérez-Badía (Eds.), *Manual de Alergopatología, Plantas, Pólenes y Proteínas* (pp. 141–161). Milkpost: Toledo.
- Niederberger, V., Purohit, A., Oster, J. P., Spitzauer, S., Valenta, R., & Pauli, G. (2002). The allergen profile of ash (*Fraxinus excelsior*) pollen: cross-reactivity with allergens from various plant species. *Clinical Experimental Allergy*, 32, 933–941.
- Nilsson, S., & Persson, S. (1981). Tree pollen spectra in the Stockholm region (Sweden), 1973–1980. *Grana*, 20, 179–182.
- Nitiu, D. S., & Mallo, A. C. (2002). Incidence of allergenic pollen of *Acer* spp., *Fraxinus* spp. and *Platanus* spp. in the city of La Plata, Argentina: preliminary results. *Aerobiologia*, 18, 65–71.
- Nitiu, D. S., Mallo, A. C., & Romero, E. J. (2003). Quantitative aeropalynology in the atmosphere of Buenos Aires city, Argentina. *Aerobiologia*, 19, 1–10.
- NSI. (2016). *Population by cities*. Madrid: National Institute of Statistics.
- Osada, N., Takeda, H., Okuda, T., & Awang, M. (2005). Within-crown variation in the timing of leaf emergence and fall of Malaysian trees in association with crown development patterns. *American Journal of Botany*, 92, 1210–1214.
- Palomares, O., Swoboda, I., Villalba, M., Balic, N., Spitzauer, S., Rodríguez, R., et al. (2006). The major allergen of olive pollen Ole e 1 is a diagnostic marker for sensitization to

- Oleaceae. *International Archives of Allergy and Immunology*, 141, 110–118.
- Pautasso, M., Aas, G., Queloz, V., & Holdenrieder, O. (2013). European ash (*Fraxinus excelsior*) dieback – A conservation biology challenge. *Biological Conservation*, 158, 37–49.
- Peeters, A. G. (1998). Cumulative temperatures for prediction of the beginning of ash (*Fraxinus excelsior* L.) pollen season. *Aerobiologia*, 14, 375–381.
- Peeters, A. G. (2000). Frost periods and beginning of the ash (*Fraxinus excelsior* L.) pollen season in Basel (Switzerland). *Aerobiologia*, 16, 353–359.
- Pérez-Badía, R., Vaquero, C., Sardinero, S., Galán, C., & García-Mozo, H. (2010). Intradial variations of allergenic tree pollen in the atmosphere of Toledo (central Spain). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 17, 269–275.
- Poncet, P., Senechal, H., Clement, G., Purohit, A., Sutra, J. P., Desvaux, F. X., et al. (2010). Evaluation of ash pollen sensitization pattern using proteomic approach with individual sera from allergic patients. *Allergy*, 65, 571–580.
- Pue, M. (2012). Influence of meteorological parameters and air pollution on hourly fluctuation of birch (*Betula* L.) and ash (*Fraxinus* L.) airborne pollen. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19, 660–665.
- Robledo-Retana, T., Zenteno, E., Agundis-Mata, M. C., Pereyra-Morales, M. A., Calderón-Segura, M. E., & Calderón-Ezquerro, M. C. (2015). Detection of immunogens from *Fraxinus* spp. pollen grains. *Aerobiologia*, 31, 403–410. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9373-7>.
- Rocha-Estrada, A., Alvarado-Vázquez, M. A., Torres-Cepeda, T. E., Foroughbakhch-Pournavab, R., & Hernández-Piñero, J. L. (2008). Airborne pollen of *Carya*, *Celtis*, *Cupressus*, *Fraxinus* and *Pinus* in the metropolitan area of Monterrey Nuevo Leon, Mexico. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 15, 205–209.
- Rodríguez-Rajo, F. J., Vega-Maray, A., Asturias, J. A., Jato, V., Seoane-Camba, J. A., & Suárez-Cervera, M. (2010). The relationship between tapetum cells and microspores based on protein localization in *Fraxinus angustifolia* (Oleaceae) pollen grains. *International Journal of Plant Sciences*, 171(34), 52.
- Ščevková, J., Dušička, J., Mičičeta, K., & Somorčik, J. (2015). Diurnal variation in airborne pollen concentration of six allergenic tree taxa and its relationship with meteorological parameters. *Aerobiologia*, 31, 457–468. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9379-1>.
- Schmid-Grendelmeier, P. (2012). Pollen allergy and immunotherapy. *Therapeutische Umschau*, 69, 239–248.
- Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., & Muñoz-Rodríguez, A. (2007). The importance of interactions between meteorological conditions when interpreting their effect on the dispersal of pollen from homogeneously distributed sources. *Aerobiologia*, 23, 17–26.
- Simoleit, A., Gauger, U., Mücke, A. H., Werchan, M., Obstová, B., Zuberbier, T., et al. (2016). Intradial patterns of allergenic airborne pollen near a city motorway in Berlin, Germany. *Aerobiologia*, 32, 199–209.
- Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J. M., Fernández-Rodríguez, S., Gonzalo-Garijo, A., & Silva-Palacios, I. (2013). Influence of environmental factors on measurements with Hirst spore traps. *Grana*, 52, 59–70.
- Tormo-Molina, R., Muñoz-Rodríguez, A., & Silva-Palacios, I. (1996a). Sampling in aerobiology: Differences between traverses along the length of the slide in Hirst sporetraps. *Aerobiologia*, 12, 161–166.
- Tormo-Molina, R., Muñoz-Rodríguez, A., Silva-Palacios, I., & Gallardo, F. (1996b). Pollen production in anemophilous trees. *Grana*, 35, 38–46.
- Torres, M., Palomares, O., Quiralte, J., Pauli, G., Rodríguez, R., & Villalba, M. (2015). An enzymatically active β -1,3-glucanase from ash pollen with allergenic properties: A particular member in the Oleaceae family. *PLoS ONE*, 10(7), e0133066. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133066>.
- Vara, A., Fernández-González, M., Aira, M. J., & Rodríguez-Rajo, F. J. (2016a). Oleaceae cross-reactions as potential pollinosis cause in urban areas. *Science of the Total Environment*, 542, 435–440.
- Vara, A., Fernández-González, M., Aira, M. J., & Rodríguez-Rajo, F. J. (2016b). *Fraxinus* pollen and allergen concentrations in Ourense (South-western Europe). *Environmental Research*, 147, 241–248.
- Wallander, E. (2008). Systematics of *Fraxinus* (Oleaceae) and evolution of dioecy. *Plant Systematics and Evolution*, 273, 25–49.
- Weber, R. W. (2014). On the cover-green ash. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 112, A13.
- Ziello, C., Sparks, T. H., Estrella, N., Belmonte, J., Bergmann, K. C., Bucher, E., et al. (2012). Changes to airborne pollen counts across Europe. *PLoS ONE*, 7(4), e34076. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034076>.

6.2. Capítulo II

***Phenology of Cupressaceae urban
infrastructure related to their pollen
content and meteorological variables***



Phenology of Cupressaceae urban infrastructure related to its pollen content and meteorological variables

A. Monroy-Colín · J. M. Maya-Manzano · I. Silva-Palacios · R. Tormo-Molina · R. Pecero-Casimiro · Á. Gonzalo-Garijo · S. Fernández-Rodríguez

Received: 13 December 2019 / Accepted: 19 May 2020
© Springer Nature B.V. 2020

Abstract Cupressaceae pollen is one of the major airborne allergens of the Mediterranean region and in other regions around the world. Pollen production of these species causes considerable allergic problems during winter, being this type of pollen the most abundant in this period of the year. This work aims to relate phenology, meteorology and airborne pollen records in these species. Aerobiological sampling was carried out in Badajoz (SW Spain) from 2016 to 2018 using Hirst-type volumetric sampler. Pollination phenology was studied in 50 specimens, ten of *Cupressus macrocarpa*, ten of *Cupressus arizonica*, 15 of *Cupressus sempervirens* and 15 of *Platycladus orientalis* with a frequency of 3–4 days on average during the months of January to March. In all cases, five specimens were in the surrounding of pollen station

and at least five of them 4 km apart. For phenology, BBCH methodology was used. Daily data for the whole period and hourly data for the last 2 years were analyzed, including pollen records and meteorology. Comparison between pollen records and sources distribution was assessed. Main pollen season lasted on average 91 (89–94) days. In all the years, the peaks of phenology of the different species can be matched with peaks of airborne pollen records, considering that rain can prevent a more precise correspondence.

Keywords Phenology · Botany · Cupressaceae pollen · Urban maps · Meteorology · Allergy

A. Monroy-Colín · R. Tormo-Molina · R. Pecero-Casimiro
Department of Plant Biology, Ecology and Earth Sciences, Faculty of Science, University of Extremadura, Avda. Elvas s/n, Badajoz, Spain

J. M. Maya-Manzano
School of Chemical and Pharmaceutical Sciences, Technological University Dublin, Kevin Street, Dublin, Ireland

J. M. Maya-Manzano
Center of Allergy and Environment (ZAUM), Technische Universität München/Helmholtz Center, Biedersteiner Str 29, Munich, Germany

I. Silva-Palacios
Department of Applied Physics, Engineering Agricultural School, University of Extremadura, Avda. Adolfo Suárez s/n, Badajoz, Spain

Á. Gonzalo-Garijo
Department of Allergology, Badajoz University Hospital, Avda. Elvas s/n, Badajoz, Spain

S. Fernández-Rodríguez (✉)
Department of Construction, School of Technology, University of Extremadura, Avda. de la Universidad s/n, Cáceres, Spain
e-mail: santiferro@unex.es

1 Introduction

Cupressaceae family is integrated by 30 genera with 133 species of evergreen shrubs and trees, distributed worldwide (Schulzz et al. 2005), being the most representative genera in Europe: *Cupressus* (cypresses), *Juniperus* (junipers), *Chamaecyparis* (white cedar of Oregon), *Calocedrus* (white cedar of California) and *Platycladus* (Chinese thuja) (Page 1990; Schulzz et al. 2005). The two former taxa are endemic species in Europe, and the rest are planted as ornamentals. Many members of the cypress family are important as timber sources or ornamentals, especially arborvitae, cypress, bald cypress and juniper (Chhaya and Johri 1997). They also contain useful oils, resins and tannins (Chhaya and Johri 1997 and James 2015). They are widely used for windbreak hedges on account of their fast growth, low water needs and low cost (Charpin et al. 2017). In this area, pollen from early pollinating species (e.g., *Juniperus oxycedrus*) is produced in October and November, while pollination by late pollinating species (e.g., *Cupressus sempervirens*) can occur up to late April or May (Charpin et al. 2017). *C. sempervirens* is the most common pollinating species, and it accounts for half of the total of atmospheric pollen concentration over season (Charpin et al. 2017).

The leaves of these plants are scale-like opposite or needle-like (Watson and Eckenwalder 1993). Nevertheless, the last classification (Christenhusz et al. 2011) using molecular phylogenetic techniques includes the genus from the old Taxodiaceae family as *Taxodium*, *Cryptomeria*, *Sequoiadendron* and *Sequoia* with species used as ornamentals with minor representation. The male reproductive structures are borne at the ends of short twigs. The female cones are terminal, with opposite or whorled scales, consisting of both a fused bract and a scale. The seeds cones, usually woody (fleshy in *Juniperus*), have erect ovules (James 2015).

The pollen grains have spheroidal morphology, with a variable size between 19 and 38 μm , unapertured and with a thin exine with fine and thick granules irregularly scattered (orbicules) (Bortenschlager 1989). Occasionally, pollen grains can break off leaving the protoplast wrapped in a very thick and gelatinous intine (Chhaya and Johri 1997; Schulzz et al. 2005; James 2015). Pollen grains morphology do not provide characteristics to differentiate the genera of this family

(stenopalynous character), being in aerobiological studies all species included in the same pollen type. Consequently, the partial contribution of each Cupressaceae species to the airborne pollen spectrum cannot be determined (Galán et al. 1998). Pollination usually occurs in late winter or spring but may occur anytime from late summer to early winter for some species of *Juniperus* (Bikarma et al. 2018).

In Europe, Cupressaceae causes considerable presence of pollen grains during the winter, which makes this type of pollen the most abundant in this period of the year (Cabrera and Subiza 2008). Particularly for the western Mediterranean area, it is extended from October to April and, in general, maxima are reached in February and March (Bousquet et al. 1984; Caiaffa et al. 1993; Subiza et al. 1998). Seed maturation occurs in late summer or autumn (Watson and Eckenwalder 1993). Pollen release patterns reflect plant phenology, which is in turn affected by climatic factors, such as temperature (especially in trees) and relative humidity (especially in herbaceous plants) as reported by Pace et al. (2017). In winter, its pollen stands out since there is no high count of other species. Generally, pollen counts are carried out in a common way for all genera of the Cupressaceae and Taxaceae family (Hidalgo et al. 2003; Pace et al. 2017).

Studies on floral phenology for allergenic plants are scarce, and these observations are of great interest and complementary to understand and to study pollen allergy and reproductive biology (Monroy-Colín et al. 2018), being useful to forecast pollen concentrations (Hidalgo et al. 2003; García-Mozo et al. 2008). In this way, it allows to identify the beginning of the emission of allergy-related aerobiological particles and thus alert allergic patients (Katz et al. 2019). The floral phenology includes the direct observation of the flowering of the plants and at the same time through the pollen measurement in the emitted air (Hidalgo et al. 2003; Tormo-Molina et al. 2011).

Thus, although the presence of pollen in the air reflects mainly the composition of the local vegetation (Katz et al. 2019), the dispersion, deposition and consequently the records for pollen grains depend on several factors such as the number of plants in the city and their maturity (Maya-Manzano et al. 2017a), the pollen production per individual (Tormo-Molina et al. 2011; Tormo-Molina et al. 2015) and the meteorology (Hidalgo et al. 2003; Katz et al. 2019). The wind direction pattern is particularly important (Hidalgo

et al. 2003; Charpin et al. 2017), since it can distort the pollen records transporting pollen from other points within or outside one city (Damialis et al. 2005; Maya-Manzano et al. 2017b) or by means of resuspension of the particles that had already been deposited (Díaz de la Guardia et al. 2006; Tormo-Molina et al. 2011). Also, likewise, the results can be influenced by the location of the aerobiological samplers within the city, the proximity of the pollen sources and the land use (Maya-Manzano et al. 2017b). Consequently, the assumption that pollen in the air is equivalent to phenology is misleading, particularly in regions with variable climatic conditions (Aboulaich et al. 2008). Day-to-day weather variability can strongly impact this, as can transport (also a direct consequence of a particular weather pattern).

Therefore, the importance of developing field studies and to contrast them with what is observed in the volumetric samplers, especially for the most allergenic species as Cupressaceae family (Díaz de la Guardia et al. 2006; Tormo-Molina et al. 2011). Cupressaceae pollen has been cited as one of the major airborne allergens of the Mediterranean region and in other regions around the world (D'Amato et al. 2007; Charpin et al. 2017). The first reference of allergy caused by this pollen was in Japan (Miyao et al. 1993). Subsequently, reports have appeared, mainly from European countries, Japan and North America, reporting cases of cypress allergy (Charpin et al. 2005 and D'Amato et al. 2007). Burbach et al. (2009) reported clinically relevant sensitization rates of 2.6% in Europe, reaching rates of 6% and 8.7% for Italy and UK. The prevalence of sensitization to Cupressaceae pollen has increased in the last decades due to: (a) a higher exposure due to an overuse and planting of trees (Charpin et al. 2019), (b) the increasing allergenicity of pollen grains due to atmospheric pollutants (Wang et al. 2010; Suarez-Cervera et al. 2008; Okuyama et al. 2007), (c) a proper identification of the allergic disease (confused in the past with winter catarrhal processes) with improved allergenic extracts (Charpin et al. 2019) and (d) due to global warming, the pollination period tends to last longer, and there is a trend for inducing a redistribution of Cupressaceae toward northern areas, leading to the sensitization of more individuals (Charpin et al. 2019). Allergic patients to Cupressaceae pollen have a very high incidence of rhinitis and conjunctivitis, being more severe than in the rest

of other pollinosis (Bousquet et al. 1993; Hrabina et al. 2003; Pahus et al. 2018).

The pollination of some of these varieties coincides temporarily, and because there is great cross-reactivity between them, the presence of symptoms is continuous for several months, with onset of peaks outside the station (Lahoz et al. 2003). Cupressaceae is characterized by the dispersion of its pollen when temperatures are mild, while it avoids it when it is cold (Cabrera and Subiza 2008; Díaz de la Guardia et al. 2006; Tormo-Molina et al. 2011). The duration and intensity of the mean pollen season are closely linked to the length of the period registering allergic symptoms. Therefore, winter (with warmer temperature and with more rainfall than usual as it has been in recent years) is favorable to more pollen being released and it favors a higher incidence of symptoms among those affected (Cabrera and Subiza 2008). It is important to study the influence of meteorology on the presence of pollen in the air. There are some studies that indicate that the temperature plays an important role in the presence of pollen grains in the air (Belmonte et al. 1999; Burr 1999; Emberlin et al. 1999; Torrigiani et al. 2007). Díaz de la Guardia et al. (2006) carried out a 7-year study, where they pointed out that the fluctuations found in the duration of the pollination period are directly related to environmental conditions in the period prior, such as rain and temperature; the precipitation during flowering causes excessive prolongation of the season and low pollen intensity; and on the other hand, excessively warm temperatures during pollen production shorten the mean pollen season and prompt high concentrations. According to previous Spanish studies (Galán et al. 1998; Carriñanos et al. 2000; Aira et al. 2001; Tortajada and Mateu 2008 and Silva-Palacios et al. 2016), statistically significant correlation coefficients have been found with thermal parameters, rainfall and relative humidity with the presence of pollen in the air.

Green spaces and urban green infrastructure are new concepts in urban planning, and lately, the influence of green spaces in cities from the point of view of local climate change to the influence on the health of urban areas has been taken into account population, as some of the most used ornamental trees in cities cause allergic symptoms in sensitized people (Maya-Manzano et al. 2017a). Due to the increase in the number of patients with allergies, it is necessary to identify the source of pollen origin and thus improve

the air quality within cities. Currently, there are some studies about the allergenic potential of some ornamental plants (Velasco-Jiménez et al. 2013; Staffolani et al. 2011); however, none of them identifies, quantifies and georeferences specimens of species with aerobiological interest. In the study area planted as ornamentals appear seven species (*Platycladus orientalis*, *Calocedrus decurrens*, *Juniperus horizontalis*, *Cupressocyparis leylandii*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus macrocarpa* and *Cupressus sempervirens*) (Silva-Palacios et al. 2016). Other related species with similar pollen morphology but with a minimal representation are *Taxus baccata*, *Sequoia sempervirens*, *Taxodium distichum*, *Juniperus oxycedrus* and *Juniperus phoenicea*.

The objective of this study is to analyze the relationships of Cupressaceae airborne pollen with the distribution of pollen sources surrounding the sampler considering meteorology and phenology, for a period of 3 years of monitoring in a city of SW Iberian Peninsula.

2 Materials and methods

This study has been carried out in Badajoz, a city of Extremadura (SW of Iberian Peninsula) with 150,543 inhabitants (NSI 2018). The city is located 184 m above sea level and crossed by the Guadiana River with the Gévorá River as a tributary. The region has a Mediterranean climate affected by a degree of continentality, with an average annual temperature for Badajoz of 17.1 °C and an average annual rainfall of 463 mm. The highest temperatures are reached in the summer, mainly in July and August (AEMET 2019).

Trees of Cupressaceae were explored during the period of this study (2016–2018) in Badajoz (SW Iberian Peninsula), counted and georeferenced on a map. Meteorological data were provided by the National Meteorology Agency (AEMET 2019) with the meteorological station located at 38° 53' 15" N, 7° 0' 29" W, at 3.75 km apart from the aerobiological sampler. Moreover, a portable weather station (WS-GP1 Delta-T) was located 2 meters apart from the pollen trap (Fig. 1a). While the AEMET meteorological station provided daily data, the portable meteorological station data were recorded every 10 min, including temperature (°C), rain (mm), relative humidity (%), wind speed (m s^{-1}) and wind direction

(degrees), providing data for the last 5 years of the study. To process wind direction data, 10-min values were transformed in 30° sections (12 values), and these values transformed into hourly data giving the mode as final value. For the rest of meteorological parameters, an average value was used except for rain that sums were calculated (Monroy-Colín et al. 2018).

Cupressaceae pollen grains have been collected using a Burkard 7-day pollen trap (Hirst 1952). The trap was situated at 6-m-height terrace, in the Agricultural Engineering School of the University of Extremadura (38°53' N, 6°58' W). Standardized data management procedures for capturing and counting airborne pollen were used according to the Spanish Aerobiology Network (REA) (Galán et al. 2007). Pollen records were expressed as the number of pollen grains per cubic meter of air (pollen grains m^{-3}), and the MPS was calculated by using the 90% method, proposed by Nilsson and Persson (1981). Phenology of pollen shedding was studied in 50 specimens for 3 years (2016, 2017 and 2018) during January to March: ten of *C. macrocarpa*, ten of *C. arizonica*, 15 of *C. sempervirens* and 15 of *Platycladus orientalis* with a frequency of 3–4 days on average. In all cases, five specimens were in the surrounding of pollen station and at least five of them 4 km apart of the pollen trap. Specimens close to the pollen trap are marked in Fig. 1b.

Phenological phases studied were recorded according to a BBCH code (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt, Chemische Industrie) (Meier 1997), an internationally recognized standard in the agricultural sector which classifies plant growth phases according to a standardized system (Meier 2001). For each tree, only in sunny days and with calm winds at noon, pollen shedding was mechanically tested over ten branches at 1.5–2 m height that were touched or shaken. Percentage of pollen shedding was recorded from beginning of flowering with 10% of open flowers (BF, BBCH 61) up to full flowering (FF, BBCH 65, general flowering or full blossom) when approximately at least 50% of the flowers are open. This methodology has been also previously used in other previous works (Monroy-Colín et al. 2018).

After the normality analysis by using the Kolmogorov–Smirnov test, nonnormality was found, and the Spearman's rank coefficient test was used to analyze the correlation between pollen concentration and meteorological parameters (temperature, rain,

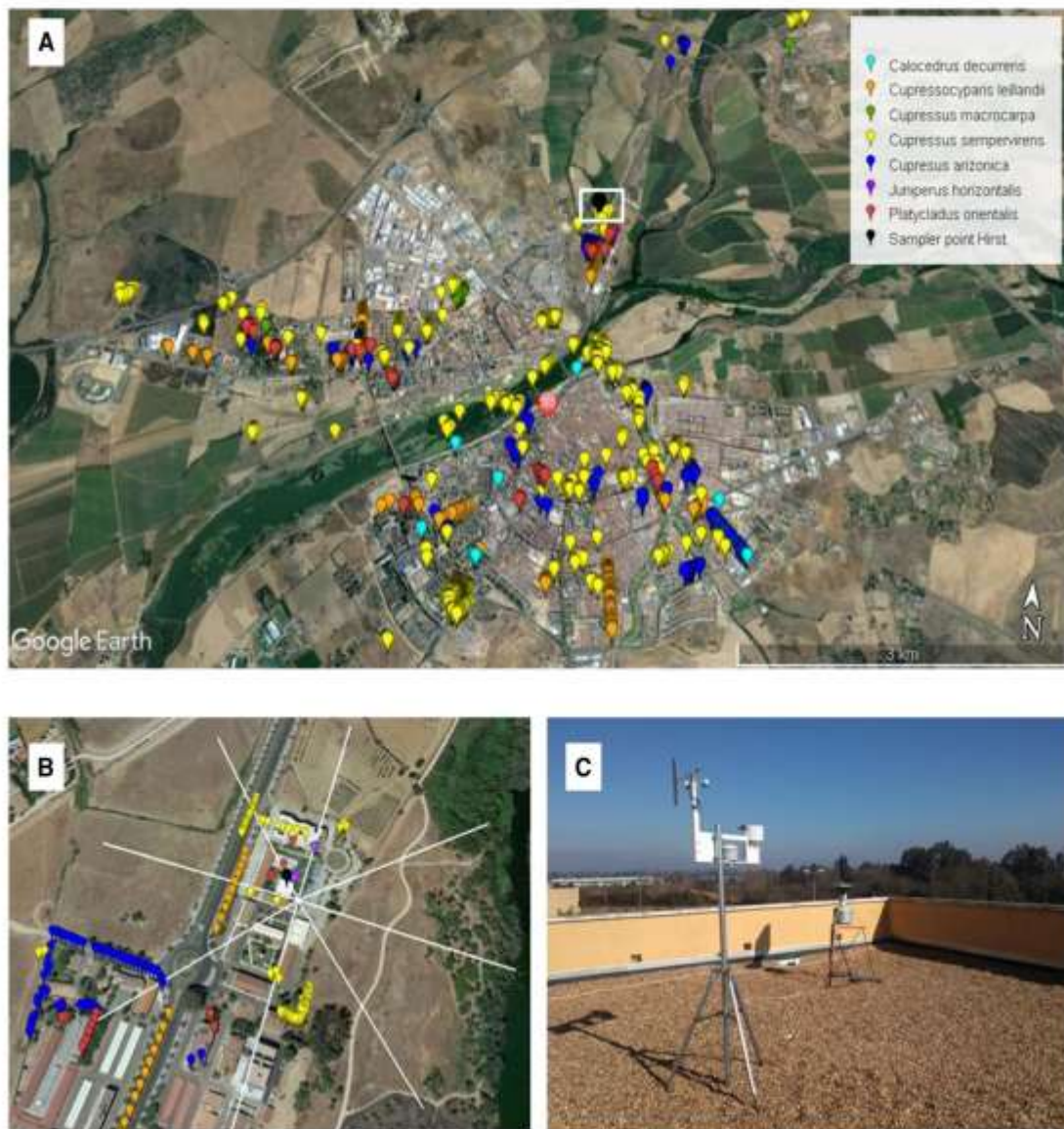


Fig. 1 **a** Geolocation of Cupressaceae trees. **b** Pollen trap location and distribution of the surrounding Cupressaceae trees. *C. sempervirens* (yellow dots), *C. arizonica* (blue dots), *P. orientalis* (red dots). Phenologically studied trees with encircled

dots were counted separately according to sections of 30 degrees surrounding the pollen trap. **c** Pollen trap and portable weather station (WS-GP1 Delta-T)

relative humidity, wind direction and wind speed). To analyze at what temperature is recorded most pollen, a graphical analysis was performed summing daily pollen concentration for each average temperature. The statistical analysis was performed with the SPSS 22 statistical package.

3 Results

In Badajoz, there were geolocalized a total of 1275 trees or shrubs belonging to the Cupressaceae family (Fig. 1a). The most abundant species are *C. sempervirens* (54%), *C. arizonica* (17%), *P. orientalis* (8%) and *C. macrocarpa* (2%). Figure 1 shows the pollen trap location and distribution of the surrounding Cupressaceae trees; a total of 150 trees were counted

within a circle 500 m in diameter surrounding the pollen trap (Fig. 1b). They were counted separately according to sections of 30 degrees surrounding the pollen trap. This area was selected because most of the trees surrounding the pollen trap were in this area, and some previous studies had also been conducted in this area (Monroy-Colín et al. 2018). Most of the trees were located toward the southwest (Table 1). Flowering began in the last week of January and ended in the third week of March. The maximums are presented with a maximum in the third week of February (Fig. 2). The average duration of the flowering period was 38 days (Tables 2 and 3). The phenological observations of species studied indicate that pollination was carried out for 76 days always within the period of airborne pollen records; however, pollen records outside the phenological observations represent 13.3%. The 0.6% of pollen was detected before and 12.7% pollen afterward (Tables 2, 3). The phenological observations indicate that the chronological order of pollen release is *P. orientalis*, *C. arizonica*, *C. macrocarpa* and *C. sempervirens* (Table 2). In 2016 and 2017, the maximum pollen concentration matched with the phenology period of three out of the four species (*P. orientalis*, *C. arizonica* and *C. macrocarpa*); however, in 2018, the maximum pollen concentration occurred after the phenology period (Table 2).

Table 1 Number of Cupressaceae trees within a circle of 500 m diameter from the pollen trap every 30°

Degrees	<i>C. sempervirens</i>	<i>C. arizonica</i>	<i>P. orientalis</i>
0–29	3	0	0
30–59	3	0	0
60–89	0	0	0
90–119	0	0	0
120–149	30	0	0
150–179	2	0	0
180–209	0	2	2
210–239	0	42	0
240–269	3	34	0
270–299	0	0	0
300–329	15	0	1
330–360	12	0	1
Total	68	78	4

In 2016, daily peak maximum pollen concentration reached 121 pollen grains m^{-3} (February 06) (Fig. 3a). Pollination period was from January 01 to April 03, with a maximum values occurring on January 22 (*P. orientalis*) (Fig. 3b), February 17 (*C. arizonica*) (Fig. 3c) and February 25 (*C. macrocarpa* and *C. sempervirens*) (Fig. 3d, e); pollen records outside this period represent 12.7% (Table 3; Fig. 3f). The maximum pollen concentration coincides with the phenology period of three of the four species (*P. orientalis*, *C. arizonica* and *C. macrocarpa*).

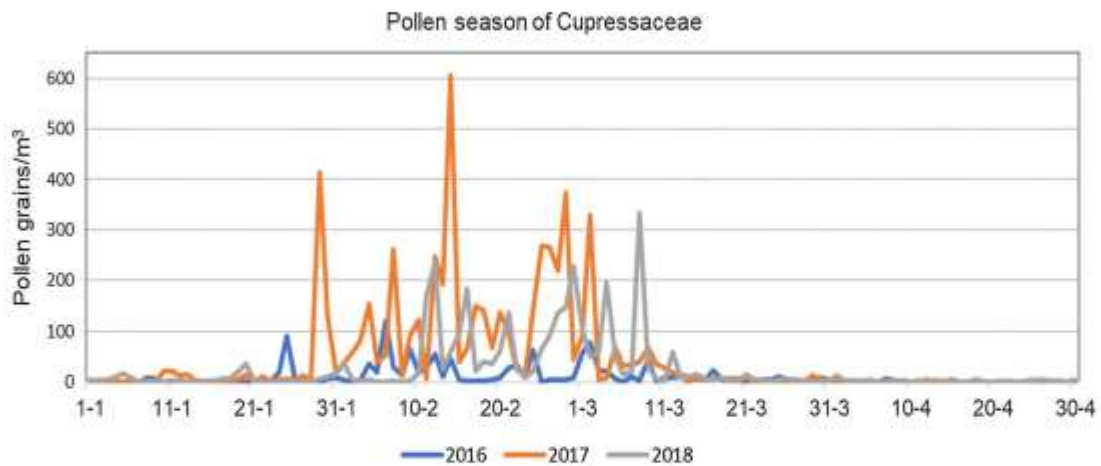
For 2017, daily peak maximum pollen concentration reached 606 pollen grains m^{-3} (February 14) (Fig. 4a). Pollination period was from January 09 to April 07, with a maximum reached on January 31 (*P. orientalis*) (Fig. 4b), February 11 (*C. arizonica*) (Fig. 4c), February 17 and 24 (*C. macrocarpa*) (Fig. 4d) and February 17 (*C. sempervirens*) (Fig. 4e). Pollen records outside this period represent 4.61% (Table 3; Fig. 4f).

In 2018, daily peak maximum pollen concentration reached 334 pollen grains m^{-3} (09/03) (Fig. 5a). Pollination period occurred from January 09 to April 07, with a maximum values occurring on January 24 (*P. orientalis*) (Fig. 5b), February 23 and 26 (*C. arizonica*) (Fig. 5c) and February 26 (*C. macrocarpa* and *C. sempervirens*) (Fig. 5d, e); pollen records outside this period represent 7.38% (Table 3; Fig. 5f).

Table 4 and Fig. 6 show the annual pollen integral for the 3 years and the hourly concentration for the period more deeply analyzed for 2016 (Fig. 6a), 2017 (Fig. 6b) and 2018 (Fig. 6c). In the 3 years, the highest average concentrations were found in the noon, finding a correlation with the increase of temperature and the decrease of humidity in the atmosphere. Figure 7 and Table 5 show the frequency of wind direction. The highest concentrations appeared when the winds are predominantly from SW for the second and third years of the study; nevertheless, in the first year were from the NW the predominant winds. Airborne pollen records showed similar results.

4 Discussion

Cupressaceae pollen was detected in Badajoz's atmosphere all through the years. The dates of flowering of Cupressaceae in the city of Badajoz are in line with

**Fig. 2** Pollen season of Cupressaceae 2016–2018**Table 2** Pollination phenology of phenology of Cupressaceae (2016–2018)

	2016			2017			2018		
	Length (days)	Peak day	Duration of flowering (days)	Length (days)	Peak day	Duration of flowering (days)	Length (days)	Peak day	Duration of flowering (days)
<i>C. arizonica</i>	01/02–16/03	17/02	45	28/01–06/03	11/02	38	10/02–12/03	23/02 and 26/02	31
<i>C. macrocarpa</i>	29/01–16/03	25/02	48	10/02–17/03 and 24/02	17/02	36	20/02–12/03	26/02	22
<i>C. sempervirens</i>	08/02–23/03	25/02	45	06/02–13/03	17/02	36	15/02–23/03	26/02	37
<i>Platycladus orientalis</i>	08/01–10/02	22/01	34	04/01–10/02	31/01	38	08/01–23/02	24/01	47

Table 3 Pollen season of Cupressaceae 2016–2018, data obtained with volumetric trap type Hirst

	Pollen season	Peak calendar day		Total days
		Day	Pollen grains m ⁻³	
2016	01/01–03/04	06/02	121	94
2017	09/01–07/04	14/02	606	89
2018	09/01–07/04	09/03	334	89

Cabrera and Subiza (2008) and Silva-Palacios et al. (2016). They pointed out that pollination in Spain occurs from October to April. Although most of the pollen is collected during the first quarter of the year, it coincides with the reported by Hidalgo et al. (2003), who indicated that in Córdoba, 95% of the pollen shed happened during the first 3 months of the year (Guerra et al. 1996; Hidalgo et al. 2003). This result matched the end of winter and start of spring, finding that the main peak occurred approximately between the end of February and the beginning of March. Several authors have recorded that February is the most important

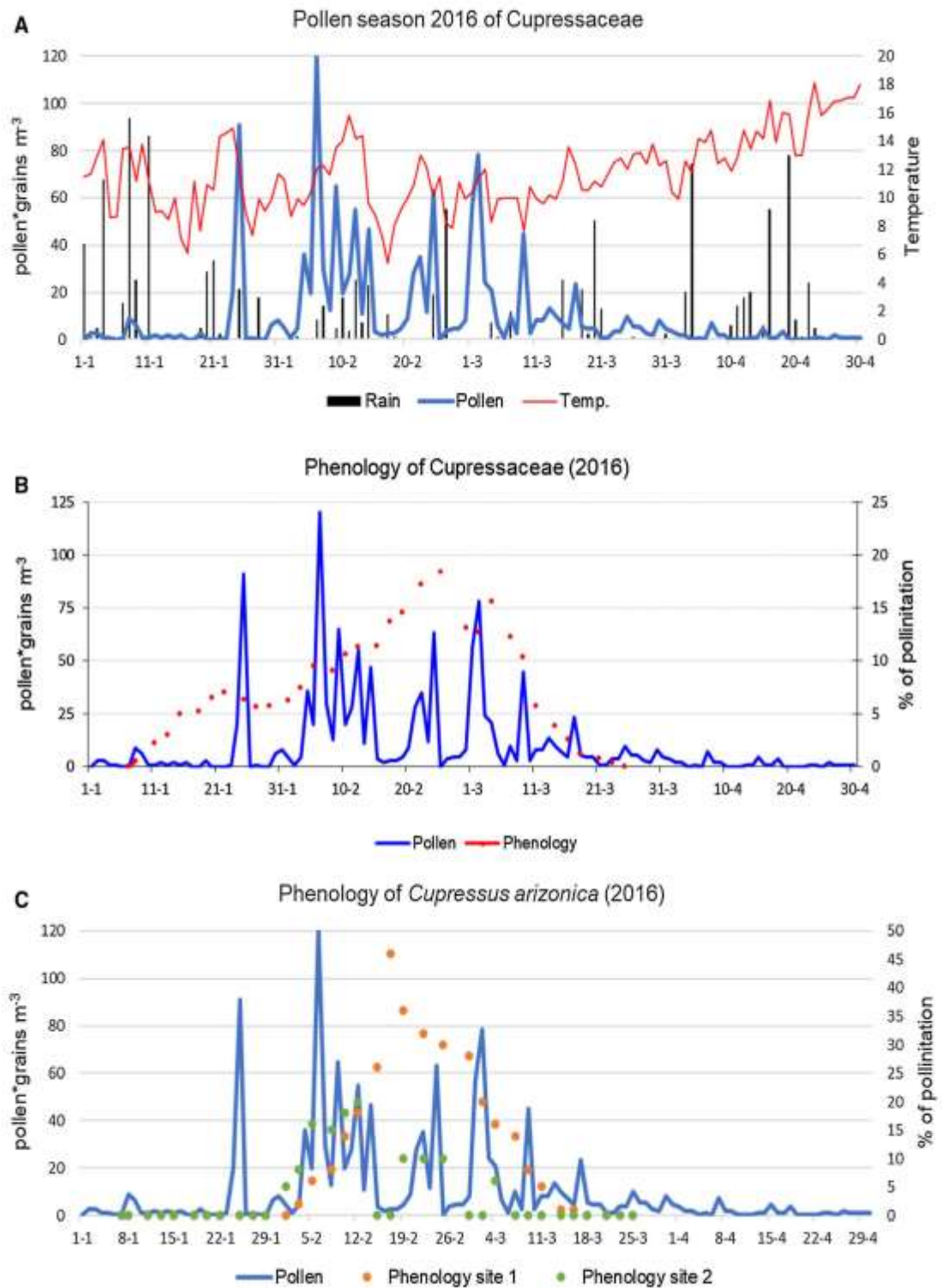


Fig. 3 Pollen season and pollination phenology of Cupressaceae 2016. **a** Pollen season. **b** Pollination phenology of *P. orientalis*. **c** Pollination phenology of *C. arizonica*. **d** Pollination phenology of *C. macrocarpa*. **e** Pollination phenology of *C. sempervirens*. **f** Pollination phenology 2016

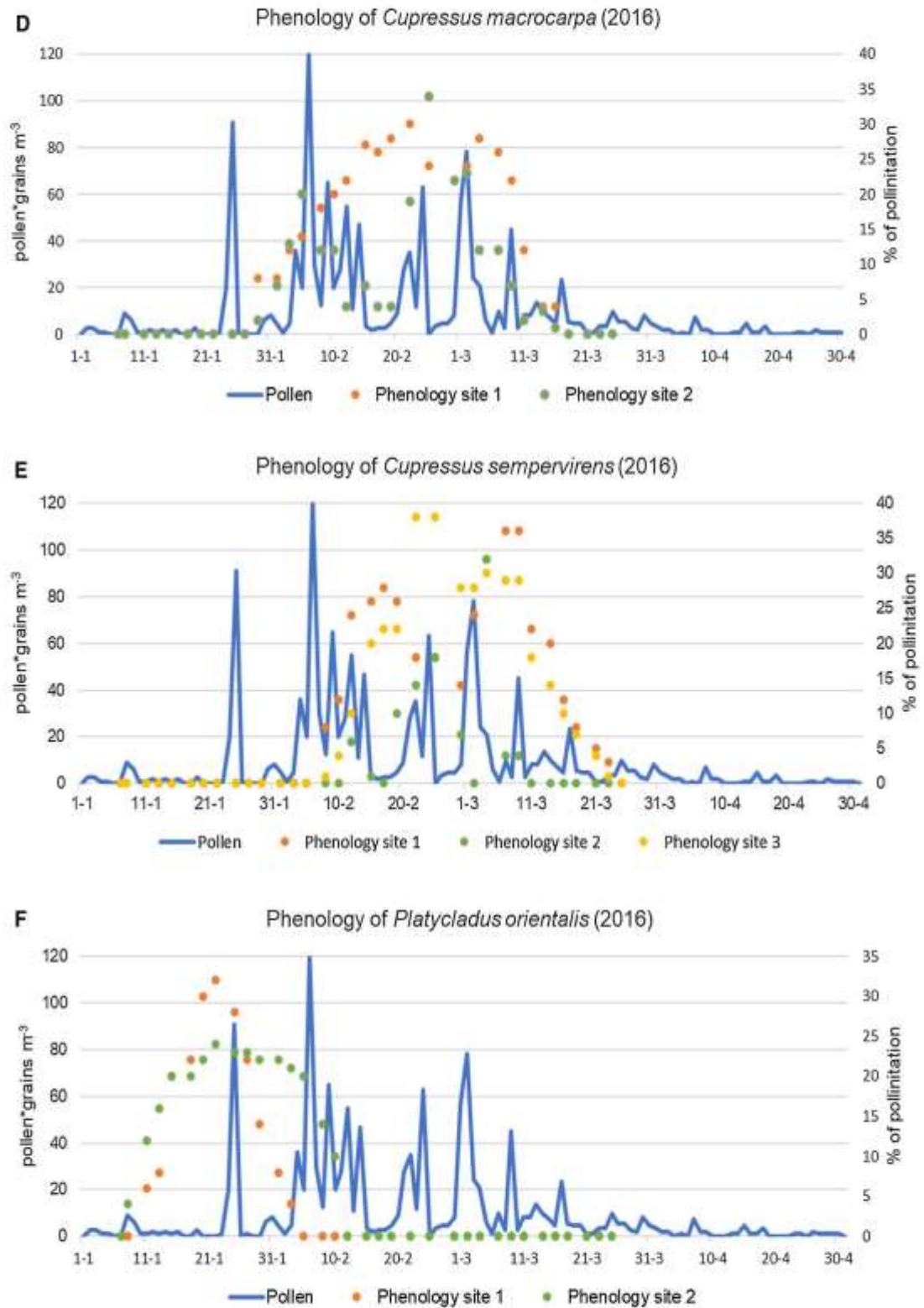


Fig. 3 continued

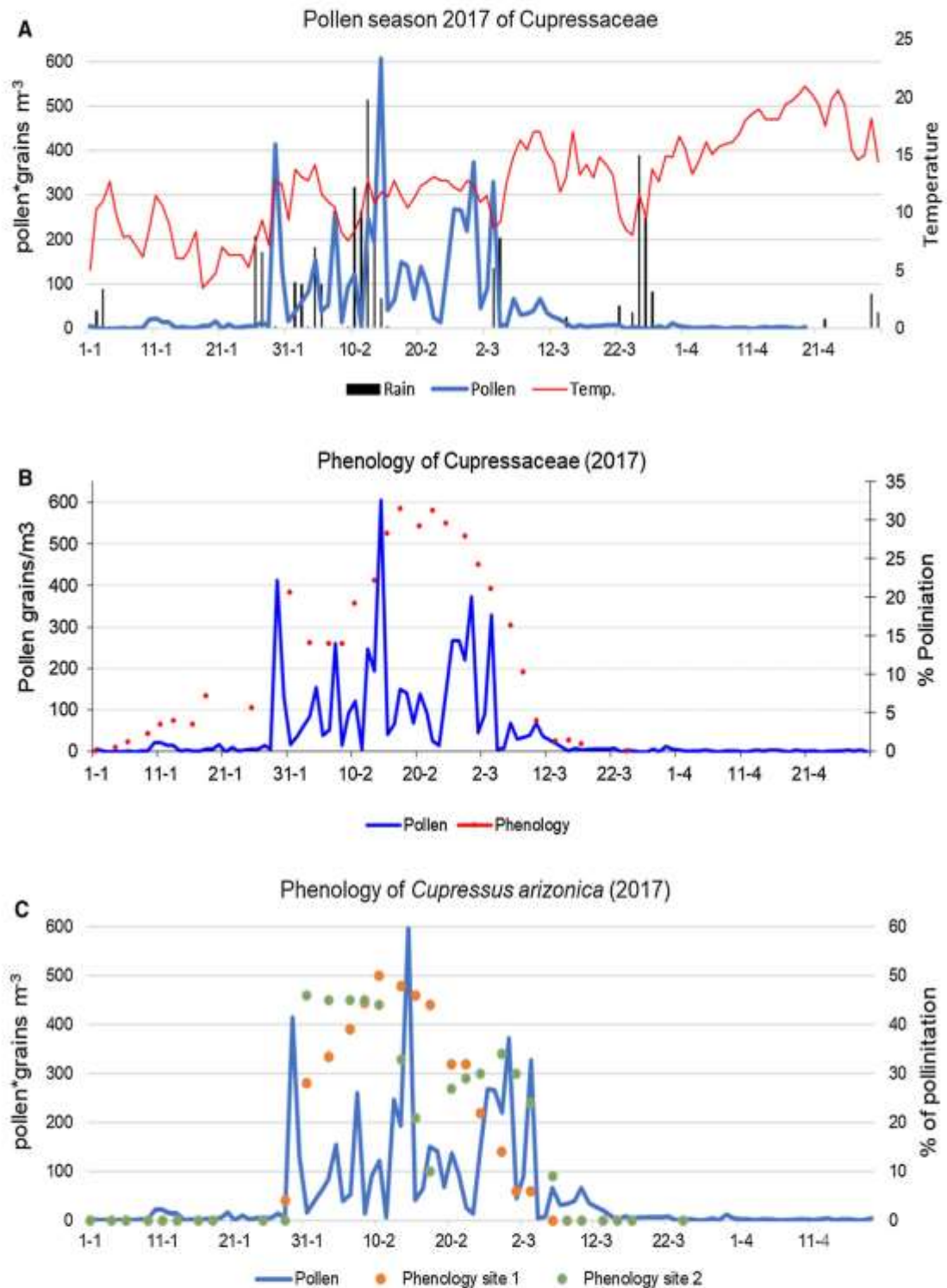


Fig. 4 Pollen season and pollination phenology of Cupressaceae 2017. **a** Pollen season. **b** Pollination phenology of *P. orientalis*. **c** Pollination phenology of *C. arizonica*. **d** Pollination phenology of *C. macrocarpa*. **e** Pollination phenology of *C. sempervirens*. **f** Pollination phenology 2017

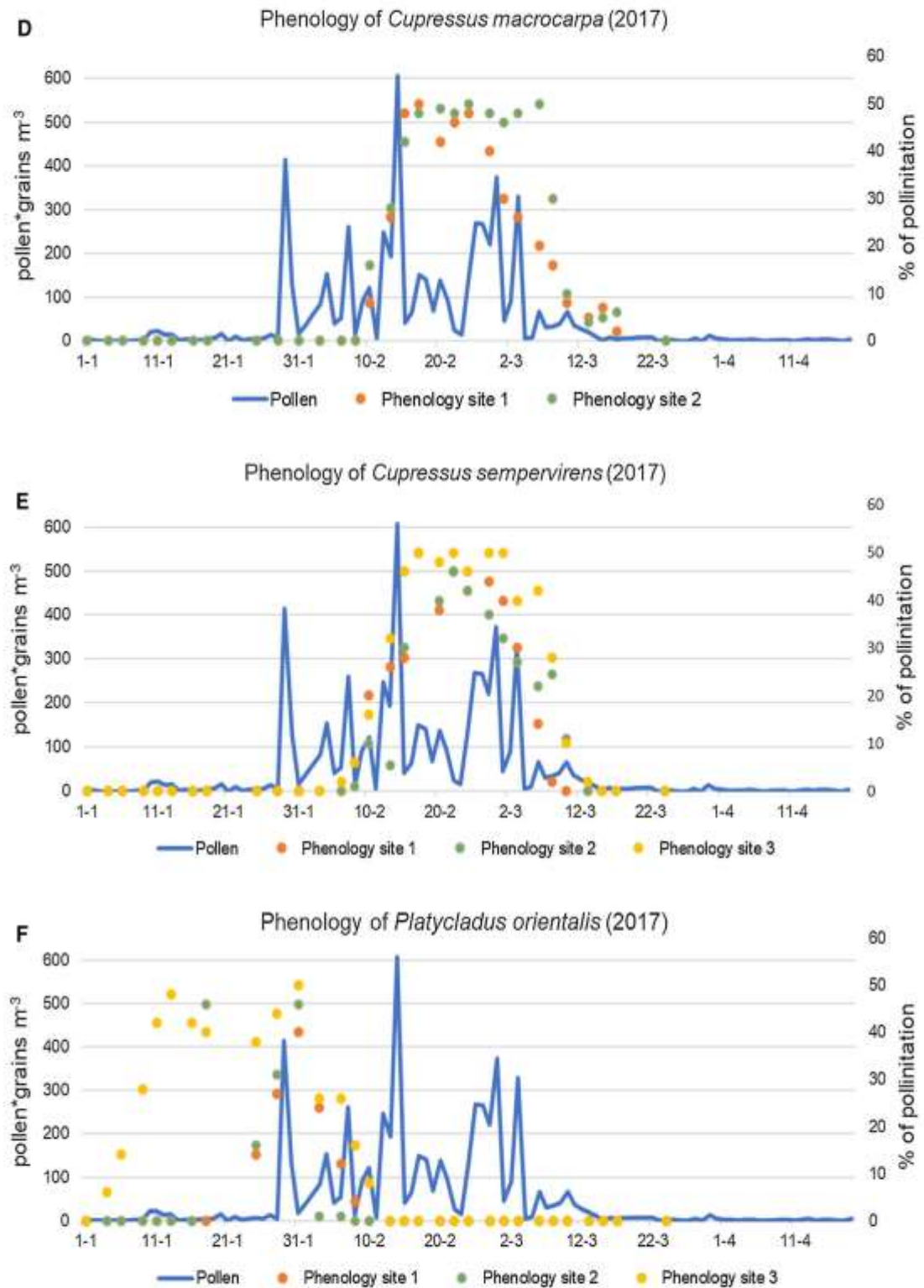


Fig. 4 continued

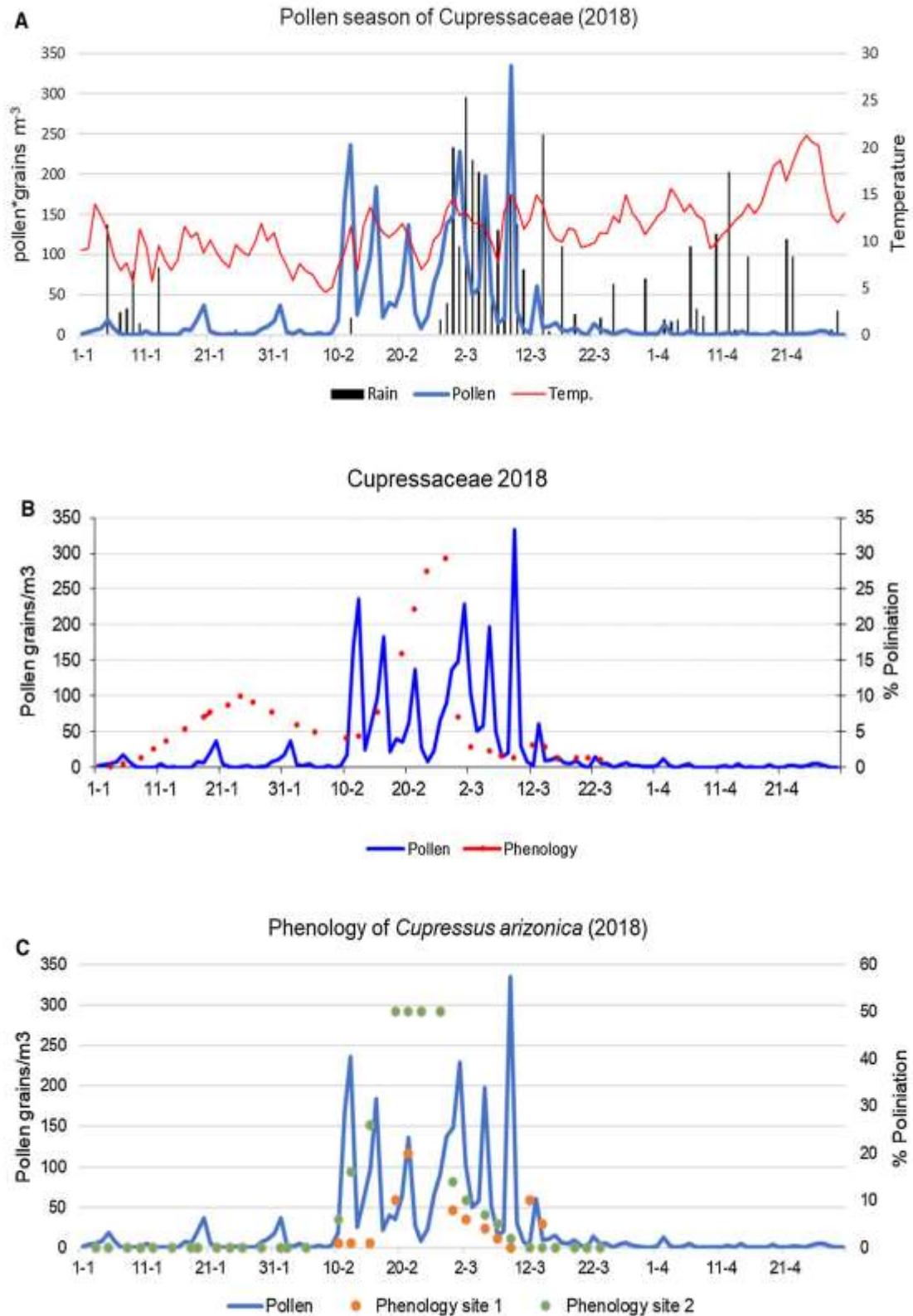


Fig. 5 Pollen season and pollination phenology of Cupressaceae 2018. **a** Pollen season. **b** Pollination phenology of *P. orientalis*. **c** Pollination phenology of *C. arizonica*. **d** Pollination phenology of *C. macrocarpa*. **e** Phenology of *C. sempervirens*. **f** Pollination phenology 2018

month to release this kind of pollen grains, with peaks of between 400 and 1000 pollen grains m^{-3} (Caballero et al. 1996; Hidalgo et al. 2003; Moral de Gregorio 2003; Cabrera and Subiza 2008). Rodríguez-Rajo et al. (2003) reported similar records for Lugo with 268 pollen grains m^{-3} in March and 213 pollen grains m^{-3} in January. There are reports for Málaga (Recio et al. 1998) of the appearance of a second peak toward the end of summer and early fall; however, in none of the 3 years of our study, this second peak appeared, or at least it is not remarkable. In our study, values were slightly lower, except for 2017 that was the year with the highest amount of Cupressaceae pollen in the air with 606 pollen grains m^{-3} . However, these data are below the maximum averages of the last decades recorded by Moral de Gregorio (2003). The duration of the main pollen season for Badajoz was on average 91 days, which coincides with that reported for the south of Spain for Cupressaceae by Belmonte et al. (1999), Silva-Palacios et al. (2016) and Tormo-Molina et al. (2011).

In 2017, the opening of flowers was 1 week ahead, compared to the other years. Cupressaceae, like other families, is characterized by its pollen release when temperatures are mild, while they avoid doing it when conditions are cold (Cabrera and Subiza 2008). The temperature plays a very important role in the flowering process, with studies showing that in the coldest years the flowering period is shorter (Tedeschini et al. 2006). On the contrary, during the warmer years, the buds break earlier and the flowering and the release of pollen are given gradually; this phenomenon could explain the difference in the beginning and duration of flowering in the year 2017 (Tedeschini et al. 2006; Cabrera and Subiza 2008).

The chronological order in the phenology coincides in the 3 years of study with that reported for the city of Córdoba; it is recorded that *C. arizonica* flowers about 2 weeks before, while *C. macrocarpa* and *C. sempervirens* bloom almost simultaneously, the first blooming a little bit earlier (Hidalgo et al. 2003). Trees of

different species of the genus *Cupressus* show a distinct male phenological behavior. Pollen release in *C. arizonica* always takes place roughly 3 weeks earlier than in the other species. Similar findings were reported by Zerboni et al. (1991) for this species in Florence, Italy, and by Hidalgo et al. (2003) in Córdoba, Spain. They also found that *C. macrocarpa* was the main pollen source in their study, being moreover the most abundant pollen coincident with the phenology period, like in our case (Table 2). Considering the duration of the phenology period and the characteristic of the plant as ornamental, there was a correspondence between the airborne pollen peaks and its phenology, we can assume that for our study, *C. sempervirens* was possibly the main source of the captured airborne pollen. In addition, we must consider that some pollen recorded in the trap is not directly related to the immediate surroundings, because they can be moved from other parts of the city. There are studies that show the importance of long-distance transport as reported by Tormo-Molina et al. (2011) for Spain and Torrigiani et al. (2006) for Italy. They also consider that airborne pollen grains captured outside the pollination period at the sites studied probably came partly from distant sources and partly from resuspension phenomena after pollination.

Studies from the South of Iberian Peninsula showed a second flowering of *C. arizonica* in Córdoba (Hidalgo et al. 2003) and *C. sempervirens* in autumnal months in Málaga (Recio et al. 1998), that we have not found in our study. Probably, this difference is due to the weather, since Hidalgo et al. (2003) commented that it is quite different from the conditions in those region; they suggest that the physiology of the trees may trigger the flowering some months before, confusing the temperatures of the end of spring with those registered at the beginning of autumn. The average pollen curve per year of Cupressaceae matches what was reported by Hidalgo et al. (2003), showing a symmetric shape despite being the result of the partial contribution of several species with a different phenology. However, the curve shows also an increase toward the end of the season, due to the flowering of the trees of *C. sempervirens*, which overlaps with the main peak produced by *C. macrocarpa*. Some small peaks before the main peak coincide with the main flowering period of *C. arizonica*.

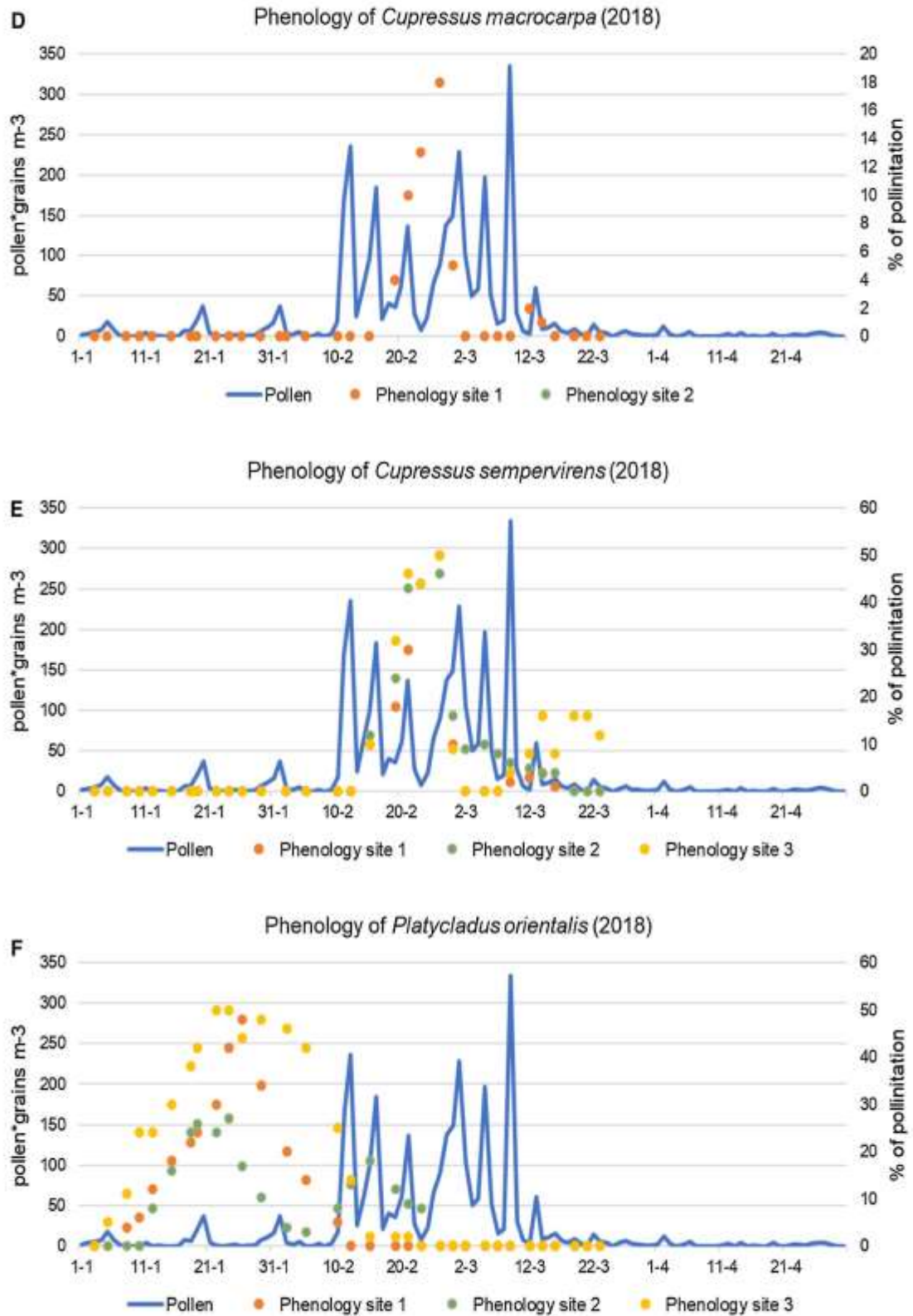


Fig. 5 continued

Table 4 SPIn (seasonal pollen integral) values, mean pollen season characteristics and Spearman's rank correlation coefficients for daily values of Cupressaceae 2016–2018 with rain(mm), minimum (T_{\min}), maximum (T_{\max}) and mean temperature (T_{mean}), in °C, and wind speed (m s^{-1})

	SPIn Pollen grains day m^{-3}	Statistically significant correlation				
		Precipitation	T_{\min}	T_{\max}	T_{mean}	Wind speed
2016	1362	− 0.10	− 0.261**	0.073	0.13	0.21*
2017	5857	0.10	0.07	− 0.19*	0.21	0.12
2018	3283	0.08	0.002	0.20*	0.10	0.10

*Significance at the 95% level

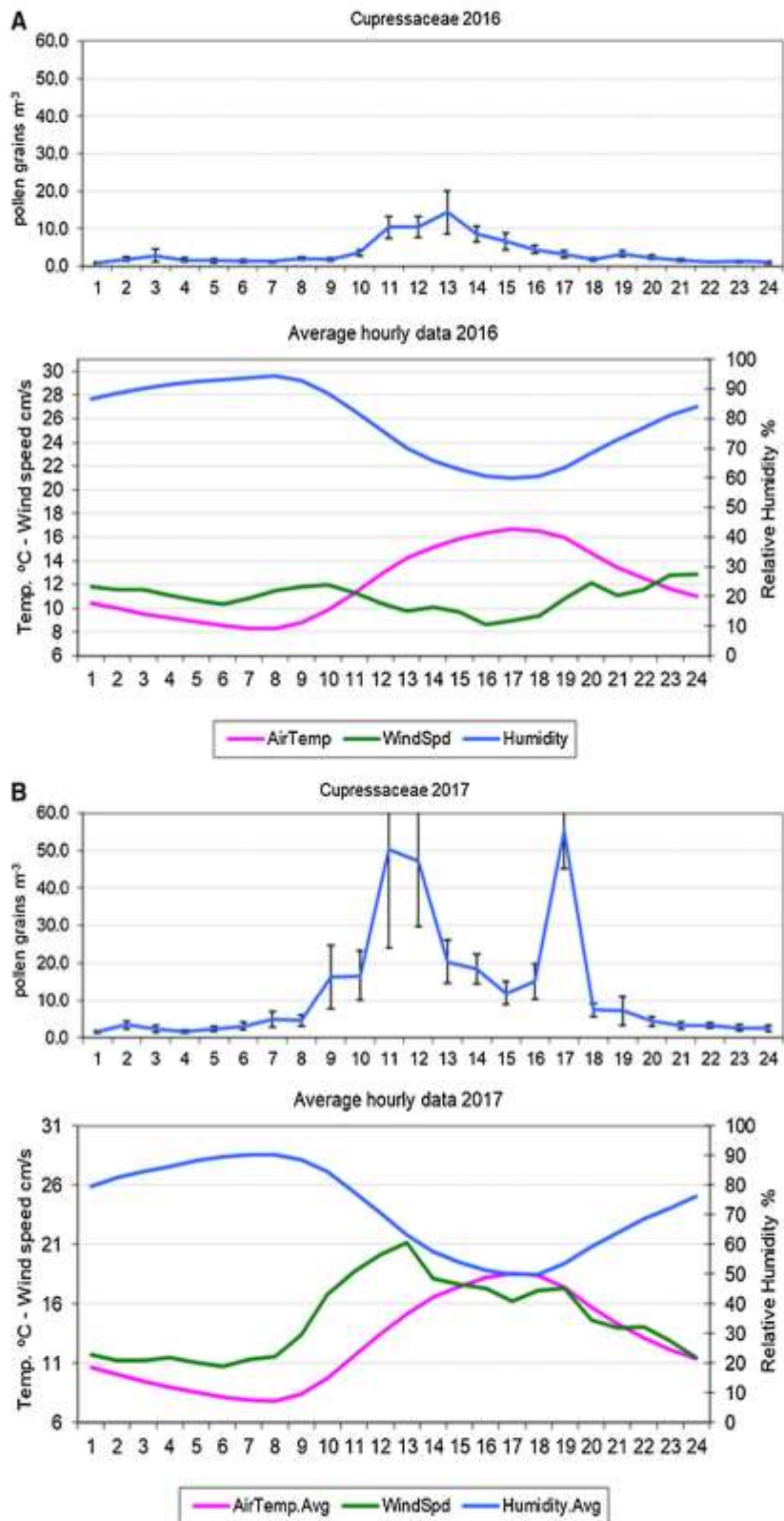
**Significance at the 99% level

There is evidence of long-distance transport of Cupressaceae pollen when sources are abundant in natural vegetation (Water and Levetin 2001; Tormo-Molina et al. 2011). In terms of hourly data, the highest values appeared between 10:00 and 16:00, and it coincides with that reported by Docampo et al. (2007), by Pérez-Badía et al. (2010) and Fernández-Rodríguez et al. (2014), the last, for the same study area as the present work.

Regarding the meteorological parameters, pollen shedding by the different species of *Cupressus* is positively correlated with Cupressaceae airborne pollen counts during the three study years. In most cases, the precipitation (and associated moisture) accounts for the lack of coincidence between flowering and the airborne pollen curve. We have found positive correlations with temperature, which agrees with other authors (Frenguelli et al. 1989), whom indicate that correlations with temperature are generally positive, because a drying of the anthers occurs, and dehiscence and release of pollen grains occur, it is important to mention that drying will only occur if relative humidity is also low. On the contrary, when the temperature drops in winter, emission is hampered and the higher humidity and precipitations provoke the aggregation and deposition of the pollen; these results coincide with other aerobiological works (Aira et al. 2001; Norris-Hill and Emberlin 1991). The precipitation (Hall 1992) produces a washing effect in the atmosphere; therefore, it always correlates negatively. Relative humidity should also present negative correlation, if it is present at high levels, because it contributes to increasing the aggregation of pollen grains and increasing the weight and causes the pollen

grains to sediment faster (Galán et al. 1989). Also, it could provoke slight delays in the pollen release regarding the pollen availability in the anther, and we have found a negative correlation with the relative humidity; Galán et al. (1989) reports does not affect pollen grains like Cupressaceae with a thin exine.

The high amount of Cupressaceae trees registered in Badajoz, considering their pollen as one of the most allergenic, provides evidence for the creation of risk maps, proper urban planning and design of green spaces in conditions for patients with allergies to this type pollinic and also allows the creation of medical alerts. The analysis of pollen source locations (Fig. 1a) and pollen records according to wind direction reflected a close relationship between the distribution for Cupressaceae trees surrounding the pollen trap and wind transporting airborne pollen, and it coincides with that reported by Tormo-Molina et al. (2013). It is generally accepted that most of the pollen trapped comes from local sources (Solomon and Mathews 1978; Keynan et al. 1991; Damialis et al. 2005). Wind showed a positive correlation with airborne pollen records, as it was highlighted by other authors in the same area (Tormo-Molina et al. 2001). The first study (Tormo-Molina et al. 2001) indicated that in Extremadura, the wind may come from the east (inland in Iberian Peninsula) or from the west (from Portugal); this case had lower temperatures and higher humidity. In our study, the peaks are coincident when the winds are coming from the west, and it is also for this area where the closest pollen production sources are located. In 2016, the direction of the wind was a bit different that those from 2017 and 2018, but the direct influence of wind direction is clear. Our results



◀ **Fig. 6** Hourly data for Cupressaceae pollen concentration, including error bars, and average meteorological parameters in 2016 (a), 2017 (b) and 2018 (c)

coincide with that reported by Damialis et al. (2005), who found a positive correlation on the wind direction and the speed, also mentioning the importance of the persistence of the wind direction in the transport of

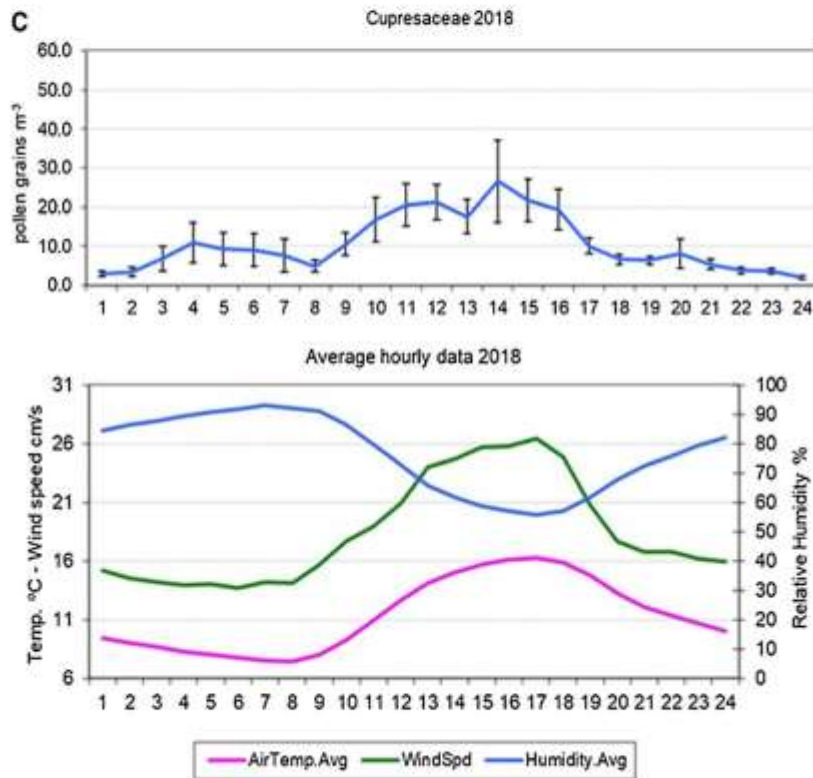
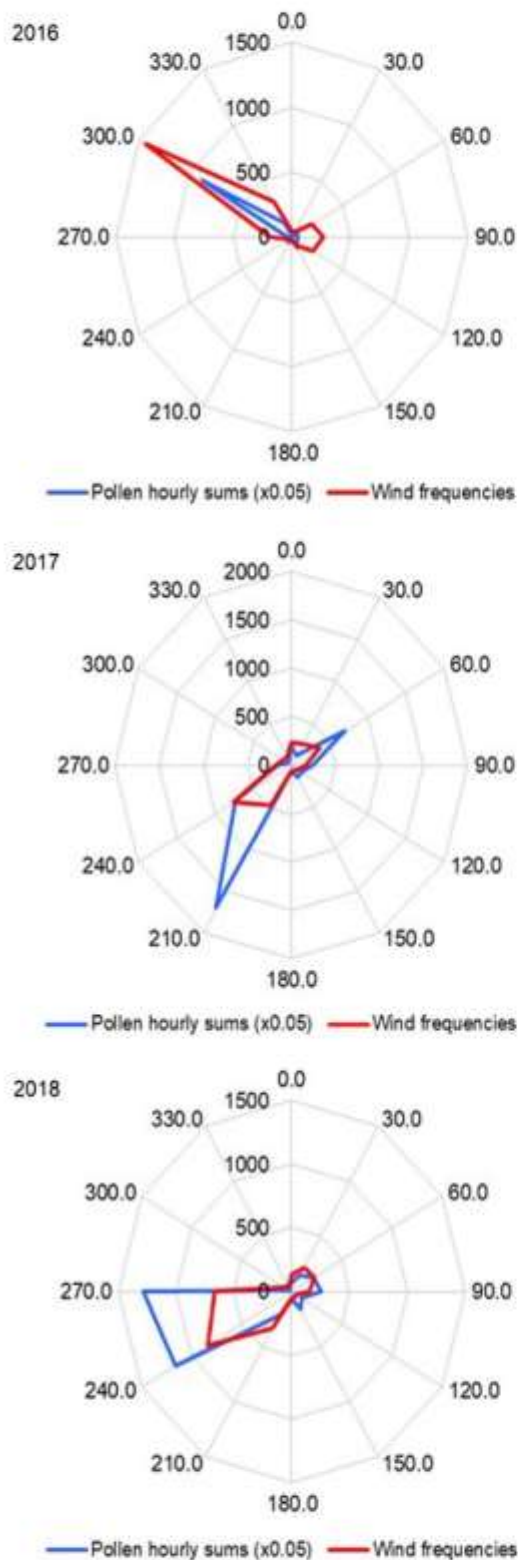


Fig. 6 continued



◀ **Fig. 7** Wind direction from the period studied (January–April 2018) calculated from records every 10 min

pollen, particularly when the weak winds prevail during a considerable part of the year. The highest concentrations appear when the winds are predominantly SW, which coincides with the greater presence of trees in that part of the city.

5 Conclusions

Cupressaceae airborne pollen was continuously present in the atmosphere of the sites studied, and the highest values were reached during end of November to mid-April. In all the studied years, the peaks of airborne pollen records did not match the phenology period for the different species and the precipitation did not allow a more precise correspondence. Within the meteorological parameters, the wind shows a great importance in relation to the source of origin of pollen grains, which seems to be a determining factor in the appearance of pollen grains of Cupressaceae in the air of the city of Badajoz. Our results could be explained because of the different phenological pollination patterns of Cupressaceae cultivated in the area studied. Furthermore, garden practices as growing more frequently *C. sempervirens* could explain the seasonal pattern found. The period of pollination of the Cupressaceae can be affected by the winter rains, although the highest counts occurred during the years of highest rainfall.

It is important to carry out phenological studies of the different species of this family, identifying clearly the peaks caused by the different species to recognize and prevent symptoms in allergic patients. In this way, this kind of urban studies may help to provide additional biological information about these urban species to predict the emission and dispersion of pollen. The establishment of a knowledge between pollen concentration, phenology and meteorology could be an important application in public health warnings.

Table 5 Hourly values of Cupressaceae in 2016–2018

	Hourly values :				Winds direction predominant
	Spearman's rank correlation coefficient (ρ)				
	Relative humidity	Wind speed	Temperature	Wind direction	
<i>2016</i>					
Highest: 11:00–14:00	– 0.81	0.66	0.82**	– 0.29	WNW
Lowest: 22:00–09:00					
<i>2017</i>					
Highest 10:00–13:00 and 16:00–18:00	0.68**	– 0.74	0.59**	– 0.64	SW
Lowest 20:00–08:00					
<i>2018</i>					
Highest: 10:00–16:00	– 0.73	0.89	0.73	– 0.79	WSW
Lowest: 21:00–02:00					

Acknowledgements This work was possible by funds from research project PRIIB16029 and research group said GR18113 financed by the Regional Government, Junta de Extremadura (Spain). Particularly, the National Commission of Science and Technology of Mexico (CONACyT) funded A.M.C and Irish Environmental Protection Agency (EPA Program 2014–2020, Climate, 2017) funded J.M.M.M during part of the realization of this paper.

References

- Aboulaich, N., Bouziane, H., El Kadiri, M., & Riadi, H. (2008). Male phenology and pollen production of *Cupressus sempervirens* in Tetouan (Morocco). *Grana*, 47, 130–138.
- AEMET. (2019). *Climate statistics. Badajoz Airport (1981–2010)*. Agencia Estatal de Meteorología. Gobierno de España.
- Aira, M., Dopazo, A., & Jato, M. J. (2001). Aerobiological monitoring of Cupressaceae pollen in Santiago de Compostela (NW Iberian Peninsula) over six years. *Aerobiologia*, 17, 319–325.
- Belmonte, J., Canela, M., Guardia, R., Guardia, R. A., Sbai, L., Vendrell, M., et al. (1999). Aerobiological dynamics of the Cupressaceae pollen in Spain, 1992–98. *Polen*, 10, 27–38.
- Bikarma, S., Sultan, P., & Singh, Bedi Y. (2018). *Juniperus chinensis* L. (Cupressaceae): A new taxa record for Himalaya and Extension of Geographic distribution in South Asia. *National Academy Science Letters*, 41(1), 69–73.
- Bortenschlager, S. (1989). Aspects of pollen morphology in the Cupressaceae. *Grana*, 29(2), 129–138.
- Bousquet, J., Cour, P., Guerin, B., & Michael, F. B. (1984). Allergy in the Mediterranean area. I. Pollen counts and pollinosis of Montpellier. *Clinical and Experimental Allergy*, 14(3), 249–258.
- Bousquet, J., Knani, J., Heijjaoui, A., Fernando, R., Cour, P., Dhivert, H., et al. (1993). Heterogeneity of atop. I. Clinical and immunologic characteristics of patients allergic to cypress pollen. *Allergy*, 48(3), 183–188.
- Burbach, G. J., Heinzerling, L. M., & Hedenharther, G. (2009). GA2LEN skin test study II: Clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe. *Allergy*, 64, 1507–1515.
- Burr, M. L. (1999). Grass pollen: Trends and predictions. *Clinical & Experimental Allergy*, 29, 735–738.
- Caballero, T., Romualdo, L., Crespo, J. F., Pascual, C., Muñoz-Pereira, M., & Martín-Esteban, M. (1996). Cupressaceae pollinosis in the Madrid area. *Clinical and Experimental Allergy*, 26, 197–201.
- Cabrera, M., & Subiza, J. (2008). Polinosis de invierno: la contaminación y el cambio climático agudizan y prolongan los síntomas. *Alergia*, 2, 1–8.
- Caiaffa, M. F., Machia, L., Strada, S., Bariletto, G., Scarpelli, F., & Tursi, A. (1993). Airborne Cupressaceae pollen in Southern Italy. *Annals of Allergy*, 71, 45–50.
- Cariñanos, P., Galán, C., Alcázar, P., & Domínguez, E. (2000). Meteorological phenomena affecting the presence of solid particles suspended in the air during winter. *International Journal of Biometeorology*, 44, 6–10.
- Charpin, D., Calleja, M., Lahoz, C., Pi-chot, C., & Waisel, Y. (2005). Allergy to cypress pollen. *Allergy*, 60, 293–301.
- Charpin, D., Pichot, C., Belmonte, J., Sutra, J. P., Zidkova, J., Chanez, P., et al. (2017). Cypress pollinosis: From tree to clinic. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 2017, 1–22.
- Charpin, D., Pichot, C., Belmonte, J., Sutra, J. P., Zidkova, J., Chanez, P., et al. (2019). Cypress pollinosis: From tree to clinic. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 56(2), 174–195.
- Chhaya, B., & Johri, M. (1997). *The gymnosperms*. Berlin: Springer.
- Christenhusz, M. J. M., Reveal, J. L., Farjon, A., Gardner, M. F., Mill, R. R., & Chase, M. (2011). A new classification and

- linear sequence of extant gymnosperms. *Phytotaxa*, 19, 55–70.
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., et al. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62(9), 976–990.
- Damiadis, A., Gioulekas, D., Lazopoulou, C., Balafoutis, C., & Vokou, D. (2005). Transport of airborne pollen into the city of Thessaloniki: The effects of wind direction, speed and persistence. *International Journal of Biometeorology*, 49, 139–145.
- Díaz de la Guardia, C., Alba, F., De Linares, C., Nieto-Lugilde, D., & López-Caballero, J. (2006). Aerobiological and allergenic analysis of Cupressaceae pollen in Granada (Southern Spain). *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 16(1), 24–33.
- Docampo, S., Recio, M., Trigo, M. M., Melgar, M., & Cabezudo, B. (2007). Risk of pollen allergy in Nerja (Southern Spain): A pollen calendar. *Aerobiologia*, 23, 189–199.
- Emberlin, J., Mullins, J., Corden, J., Jones, S., Millington, W., Brooke, M., et al. (1999). Regional variations in grass pollen seasons in the UK, long-term trends and forecast models. *Clinical and Experimental Allergy*, 29(3), 347–356.
- Fernández-Rodríguez, S., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J. M., Silva-Palacios, I., & Gonzalo-Garijo, A. (2014). Comparative study of the effect of distance on the daily and hourly pollen counts in a city in the south-western Iberian Peninsula. *Aerobiologia*, 30, 173–187.
- Frenguelli, G., Bricchi, E., Romano, B., Mincigrucci, G., & Spicksma, F. (1989). A predictive study of the beginning of the pollen season for Gramineae and *Olea europaea* L. *Aerobiologia*, 5, 64–70.
- Galán C., Cariñanos P., Alcázar P., & Domínguez-Vilches, E. (2007). *Spanish aerobiology network (REA) management and quality manual*. Servicio de Publicaciones Universidad de Córdoba. ISBN 978-84-690-6353-8.
- Galán, C., Cuevas, J., Infante, F., & Domínguez-Vilches, E. (1989). Seasonal and diurnal variation of pollen from Gramineae in the atmosphere of Córdoba (Spain). *Allergologic et Immunopathology*, 17(5), 245–249.
- Galán, C., Fuillerat, M. J., Comtois, P., & Domínguez-Vilches, E. (1998). Predictive study of Cupressaceae pollen season onset, severity, maximum value and maximum value date. *Aerobiologia*, 14, 1995–1999.
- García-Mozo, H., Chuine, I., Aira, M. J., Belmonte, J., Bermejo, D., Díaz de la Guardia, C., et al. (2008). Regional phenological models for forecasting the start and the end of the Quercus pollen season in Spain. *Agricultural and Forest Meteorology*, 148, 372–380.
- Guerra, F., Daza, J. C., Miguel, R., Moreno, C., Galán, C., Domínguez, E., et al. (1996). Sensitivity to Cupressus: Allergenic significance in Córdoba (Spain). *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 6(2), 117–120.
- Hall, S. (1992). Comparative pollen influx at a nine-array in the grand prairie of Northern Texas. *The Texas Journal of Science*, 44, 469–474.
- Hidalgo, P., Galán, G., & Domínguez, E. (2003). Male phenology of the three species of Cupressus: Correlation with airborne pollen. *Trees*, 17(4), 336–344.
- Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39(2), 257–265.
- Hrabina, M., Dumur, J. P., Sicard, H., Viatte, A., & Andre, C. (2003). Diagnosis of cypress pollen allergy: In vivo and in vitro standardization of a *Juniperus ashei* pollen extract. *Allergy*, 58(8), 808–813.
- James, W. B. (2015). *The gymnosperms handbook. A practical guide to extant families and genera of the world*. Hertford: Plant Gateway.
- Katz, D., Dzul, A., Kendel, A., & Batterman, S. (2019). Effect of intra-urban temperature variation on tree flowering phenology, airborne pollen, and measurement error in epidemiological studies of allergenic pollen. *Science of the Total Environment*, 653, 1213–1222.
- Keynan, N., Waisel, Y., Shomerilan, A., Goren, A., & Brener, S. (1991). Annual variations of airborne pollen in the coastal plain of Israel. *Grana*, 30, 477–480.
- Laboz, C., Cortagena, I., Civantos, E., López, E., Cárdena, B., Llanes, E., et al. (2003). Alergenos de las Cupresáceas. *Allergology and Clinical Immunology*, 18(3), 35–39.
- Maya-Manzano, J. M., Sadyś, M., Tormo Molina, R., Fernández Rodríguez, S., Gonzalo Garijo, A., Oteros Moreno, J. A., et al. (2017b). Relationship between airborne pollen grains, wind direction and land cover using GIS and circular statistics. *Science of the Total Environment*, 584–585, 603–613.
- Maya-Manzano, J. M., Tormo Molina, R., Fernández Rodríguez, S., Silva Palacios, I., & Gonzalo Garijo, A. (2017c). Distribution of ornamental urban trees and their influence on airborne pollen in the SW of Iberian Peninsula. *Land-scape and Urban Planning*, 157, 434–446.
- Meier, U. (1997). *BBCH-monograph: Growth stages of plants* (p. 622). Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag. ISBN 3-8263-3152-4.
- Meier, U. (2001). *Growth stages of mono-and dicotyledonous plants. BBCH monograph* (2nd Ed.). Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. <http://pub.jki.bund.de/index.php/BBCH/article/view/461>.
- Miyao, M., Furuta, M., Ozawa, K., Kondo, T., Sakakibara, H., Ishihara, S., et al. (1993). Morbidity of allergic rhinitis based on the National Health Insurance records of Japan. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 169(4), 345–350.
- Monroy-Colín, A., Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J. M., & Fernández-Rodríguez, S. (2018). Environmental analysis of airborne pollen occurrence, pollen source distribution and phenology of *Fraxinus angustifolia*. *Aerobiologia*, 34(4), 269–283.
- Moral de Gregorio, A. (2003). Aerobiología y polinosis por Cupresáceas en España. *Alergología e Inmunología Clínica*, 18(Extraordinario 3), 24–39.
- Nilsson, S., & Persson, S. (1981). Tree pollen spectra in the Stockholm region (Sweden), 1973–1980. *Grana*, 20(3), 179–182.
- Norris-Hill, J., & Emberlin, J. (1991). Diurnal variation of pollen concentration in the air of north-central London. *Grana*, 30, 229–234.
- NSI (2018). *Population by cities*. Madrid: National Institute of Statistics.
- Okuyama, Y., Matsumoto, K., Okochi, H., & Igawa, M. (2007). Adsorption of air pollutants on the grain surface of

- Japanese cedar pollen. *Atmospheric Environment*, 41(2), 253–260.
- Pace, L., Boccacci, L., Casilli, M., Di Carlo, P., & Fattorini, S. (2017). Correlations between weather conditions and airborne pollen concentration and diversity in a Mediterranean high-altitude site disclose unexpected temporal patterns. *Aerobiologia*, 34, 75–87.
- Page, C. N. (1990). Cupressaceae. In K. U. Kramer & P. S. Green (Eds.), *Pteridophytes and gymnosperms. The families and genera of vascular plants* (Vol. 1). Berlin: Springer.
- Pahus, L., Gouitaa, M., Sofalvi, T., Alagha, K., Gras, D., Chané, P., et al. (2018). Cypress pollen allergy is responsible for two distinct phenotypes of allergic rhinitis different from other pollinosis. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 50(1), 28–35.
- Pérez-Badía, R., Vaquero, C., Sardinero, S., Galán, C., & García-Mozo, H. (2010). Intradiurnal variations of allergenic tree pollen in the atmosphere of Toledo (Central Spain). *Annals of Agricultural Environmental Medicine*, 17, 37–43.
- Recio, M., Cabezudo, B., Trigo, M. M., & Toro, J. F. (1998). Pollen calendar of Malaga (Southern Spain), 1991–1995. *Aerobiologia*, 14(2), 101–107.
- Rodríguez-Rajo, F., Jato, V., & Aira, M. (2003). Pollen content in the atmosphere of Lugo (NW Spain) with reference to meteorological factors (1999–2001). *Aerobiologia*, 19, 213–225.
- Schulz, C., Knopf, P., & Stützel, T. H. (2005). Identification key to the Cypress family (Cupressaceae). *Feddes Repertorium*, 116, 96–146.
- Silva-Palacios, I., Fernández-Rodríguez, S., Durán-Barroso, P., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J. M., & Gonzalo-Garijo, Á. (2016). Temporal modelling and forecasting of the airborne pollen of Cupressaceae on the southwestern Iberian Peninsula. *International Journal of Biometeorology*, 60(2), 297–306.
- Solomon, W., & Mathews, K. (1978). Aerobiology and inhalant allergens. In E. Middleton, C. Reed, & E. Ellis (Eds.), *Allergy principles and practice* (Vol. 2). St. Louis: Mosby.
- Staffolani, L., Velasco-Jiménez, M. J., Galán, C., & Hruska, K. (2011). Allergenicity of the ornamental urban flora: Ecological and aerobiological analyses in Córdoba (Spain) and Ascoli Piceno (Italy). *Aerobiologia*, 27(3), 229–246.
- Suarez-Cervera, M., Castells, T., Vega-Maray, A., Civantos, E., del Pozo, V., Fernandez-Gonzalez, D., et al. (2008). Effects of air pollution on cup a 3 allergen in *Cupressus arizonica* pollen grains. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 101(1), 57–66.
- Subiza, J., Brito, F., & Pola, J. (1998). Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas. *Revista Española de Alergología e Inmunología Clínica*, 13, 45–58.
- Tedeschini, E., Rodríguez-Rajo, F. J., Caramiello, R., Jato, V., & Frangueli, G. (2006). The influence of climate changes in *Platanus* spp. Pollination in Spain and Italy. *Grana*, 2006(45), 222–229.
- Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J. M., Fernández-Rodríguez, S., Gonzalo, Á., & Silva, I. (2013). Influence of environmental factors on measurements with Hirst pollen traps. *Grana*, 52, 59–70.
- Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J. M., Silva-Palacios, I., Fernández-Rodríguez, S., & Gonzalo-Garijo, A. (2015). Flower production and phenology in *Dactylis glomerata*. *Aerobiologia*, 31(4), 469–479.
- Tormo-Molina, R., Silva, I., Gonzalo, A., Moreno, A., Pérez, R., & Fernández, S. (2011). Phenological records as a complement to aerobiological data. *International Journal of Biometeorology*, 55, 51–65.
- Tormo-Molina, R., Silva, I., Muñoz, A., Tavira, J., & Moreno, A. (2001). Environmental factors affecting airborne pollen concentration in anemophilous species of Plantago. *Annals of Botany*, 87, 1–8.
- Torrighiani, T., Cecchi, L., Morabito, M., Onorari, M., Domeneghetti, M. P., & Orlandini, S. (2006). Influence of meteorological conditions on male flower phenology of *Cupressus sempervirens* and correlation with pollen production in Florence. *Trees*, 21, 507–514.
- Torrighiani, T., Moriondo, M., Bindi, M., Cecchi, L., & Orlandini, S. (2007). A phenological model to evaluate the impact of the expected climate change on Cupressaceae main pollen season in Central Italy. *Italian Journal of Agrometeorology, Speciale Fenologia*, (3), 45–51.
- Tortajada, B., & Mateu, I. (2008). Cupressaceae pollen in the atmosphere of Valencia (East of Spain) and relationships with meteorological parameters. *Polen*, 18, 51–59.
- Velasco-Jiménez, M. J., Alcázar, P., Valle, A., Trigo, M. M., Minero, F., Domínguez-Vilches, E., et al. (2013). Aerobiological and ecological study of the potentially allergenic ornamental plants in south Spain. *Aerobiologia*, 30(1), 91–101.
- Wang, Q., Morita, J. N. S., Wu, D., Gong, X., Suzuki, M., Miwa, M., et al. (2010). Field investigation on modification of Japanese cedar pollen allergen in urban air-polluted area. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 69, 624–629.
- Water, P., & Levett, E. (2001). The contribution of upwind pollen sources to the characterization of *Juniperus ashei* phenology. *Grana*, 40, 133–141.
- Watson, F., & Eckenwalder, J. E. (1993). Cupressaceae. In *Flora of North America* Editorial Committee (Eds.), *Flora of North America North of Mexico*, Vol. 2. Oxford: Oxford University Press.
- Zerboni, R., Arrighioni, P. V., Manfredi, M., Rizzotto, M., Paolletti, L., & Ricceri, C. (1991). Geobotanical and phenological monitoring of allergenic pollen grains in the Florence area. *Grana*, 30, 357–363.

6.3. Capítulo III

HYSPLIT model as an environmental impact assessment tool to study the relationship between airborne pollen records and phenology of Olea europaea in the SW Spain



Contents lists available at ScienceDirect

Urban Forestry & Urban Greening

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ufug

HYSPLIT as an environmental impact assessment tool to study the data discrepancies between *Olea europaea* airborne pollen records and its phenology in SW Spain

Alejandro Monroy-Colín^a, José María Maya-Manzano^{b,c}, Rafael Tormo-Molina^a, Raúl Pecero-Casimiro^a, María Ángeles Gonzalo-Garijo^d, Santiago Fernández-Rodríguez^{e,*}

^a Department of Plant Biology, Ecology and Earth Sciences, Faculty of Science, University of Extremadura, Avda. Elvas s/n, Badajoz, Spain

^b School of Chemical and Pharmaceutical Sciences, Technological University Dublin, Kevin Street, Dublin, Ireland

^c Center of Allergy & Environment (ZAM), Technische Universität München/Helmholtz Center, Biedersteiner Str 29, 80802 Munich, Germany

^d Department of Allergology, University Hospital Complex of Badajoz, Avda. Elvas s/n, Badajoz, Spain

^e Department of Construction, School of Technology, University of Extremadura, Avda. de la Universidad s/n, Cáceres, Spain

ARTICLE INFO

Handling Editor: Alessio Fini

Keywords:

Aerobiology

Botany

Phenology

HYSPLIT

Urban maps

Olea pollen

ABSTRACT

The olive tree (*Olea europaea*) is a native evergreen tree in the Mediterranean region, being one of the most important causes of seasonal respiratory allergies in Mediterranean countries. This work aims to relate flowering phenology, source tree distribution, meteorology, and airborne pollen records for this species and to analyse the possible arrival of air masses from distant areas during days when differences between the phenological and pollen peaks. Aerobiological sampling was carried out in Badajoz (SW Spain) for 4 years (2016–2019) using a Hirst volumetric sampler. Trees were geolocalized in the city and surrounding areas. The pollination phenology of 15 specimens was studied for four years (2016–2019) during the months from April to June. The daily data for the whole period and the hourly data for the four years, including pollen records and meteorology, were analysed. The comparison between the pollen records and sources distribution was assessed. The main pollen season (thereafter, MPS) lasted an average of 34.5 (29–40) days. Phenological observations indicate that pollination occurred for 26.5 days and was mostly within the period of recorded airborne pollen; however, were days with airborne pollen recorded outside the pollination period. In 2017 the peak day was recorded when the flowering period has reached only the 10%, in other seasons this value reached the maximum peak of pollen concentration was found only a few days after the maximum of flowering. The hourly analysis showed that the maximum pollen concentrations were reached just after noon. The analysis of pollen sources and pollen records showed a close relationship with the predominant winds and tree distributions. The observed discrepancies between phenological and aerobiological data (in 2017 and 2018) were explained by the movement of air masses and long-distance transport.

1. Introduction

The monitoring of airborne olive tree pollen is very important from the points of view of agriculture, ecology (Rallo and Cuevas, 2001; Rojo and Pérez-Badía, 2015a) and medicine (D'Amato et al., 2007; Salamanca et al., 2010; Vara et al., 2016) due to the close relationship between fruit production, high allergenic potential, high pollen production by the tree and extensive cultivation (SEIAC, 2005; Rojo et al., 2016). Although aerobiological studies have traditionally been applied to allergy research, their usefulness for crop prognosis is currently being demonstrated, and they are highly desirable from an economic

standpoint, for harvesting and for planning olive oil marketing and global commercial distribution (Llerena and Garrido, 2010; Galán et al., 2004).

The olive tree is an entomophilous species that has evolved towards anemophily with many flowers, and an adult olive tree can produce large quantities of pollen grains (Rojo et al., 2016; Ferrara et al., 2007). The genus *Olea* includes approximately 35 species worldwide; 98% of olive groves are concentrated in the Mediterranean area and 24% are in Spain, mostly present in Andalucía (62%), Castilla-La Mancha (15%) and Extremadura (11%), and consist of *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *europaea* (Vargas and Talavera, 2012) as the most cultivated taxon

* Corresponding author.

E-mail address: santiferrero@unex.es (S. Fernández-Rodríguez).

<https://doi.org/10.1016/j.ufug.2020.126715>

Received 13 November 2019; Received in revised form 7 May 2020; Accepted 11 May 2020

Available online 15 May 2020

1618-8667/ © 2020 Elsevier GmbH. All rights reserved.

and an important oil-producing crop (Sevc et al., 2001; Rojo, 2014). In Extremadura, five varieties dominate those planted (e.g., Manzanilla de Sevilla, Manzanilla Cáceres, Cornicabra, Verdial de Badajoz, and Morisca), being the first that was present in the study area (Llerena and Garrido, 2010).

Moreover, olive tree pollen is considered to be one of the main pollen types responsible for allergic diseases that occur in the Mediterranean region (D'Amato et al., 2007). An elevated proportion of Mediterranean patients show pollen sensitizations that reach a rate of 80% within the group of *Olea* allergy sufferers (Moreno-Grau et al., 2016). In some regions of southern Spain, olive tree pollen is the main cause of allergic sensitization and is the cause of sensitization in more than 40–45% of sensitized individuals (Moreno-Grau et al., 2016; Salamanca et al., 2010).

Furthermore, despite this fact, in recent years, there has been much planting of this species in urban green spaces that produces large amounts of pollen (Staffolani et al., 2011; Galán et al., 2016; Charalampopoulos et al., 2018). Allergic problems in urban environments should be considered in the design of the public environments (Velasco-Jiménez et al., 2014), being olive trees frequently used as ornamentals in urban environments that have allergenic properties (Carriñanos and Casares-Porcel, 2011; Carriñanos et al., 2014).

Allergenic properties are relevant to visitor behaviour and the characteristics of green spaces in Spain (Adnolfi et al., 2014; Mohammad and Pooryousef, 2011; Fernández-Rodríguez et al., 2018; Maya-Manzano et al., 2017a).

Phenological studies are an important and complementary part of aerobiological monitoring (Monroy-Colín et al., 2018), since they allow connecting emission sources with the airborne pollen records and enable better interpretation of the aerobiological results (Fernández-Rodríguez et al., 2014a; Tormo et al., 2011); in addition to allowing the population with allergic problems to be alerted to the increase in pollen in the air (Bruns et al., 2013; Carter et al., 2017; Monroy-Colín et al., 2018). Furthermore, the information about the flowering periods helps to differentiate species within the same pollen type by their pollen curves at a specific time (Monroy-Colín et al., 2018; Zerbini and Manfredi, 1988).

The olive tree blooms during the spring and flower production is conditioned by important physiological regulations that depend directly on the environmental conditions from the previous year (Rojo, 2014; Galán et al., 2001a). In addition, there are genetic conditions that are specific to each variety (Rosati et al., 2012; Rojo, 2014; Rojo and Pérez-Badía, 2015a) and the timing and intensity of the pollen curves are strongly influenced by meteorological parameters (Hernández-Ceballos et al., 2012). Olive tree flowering shows an annual cycle, including bud formation during the previous summer, dormancy during the cold period, budburst in late winter, and flower structure development from budburst to flowering in the spring (Aguilera et al., 2015a; Zhu et al., 2013). Temperature is one of the main factors affecting the flowering of olive trees, and a low-temperature period prior to bud development is essential to interrupt dormancy (Aguilera et al., 2015a; Galán et al., 2001a). Light affects the induction of floral buds in olive trees, but its impact on the floral phenology of olive trees is much smaller than that of temperature, and these depend on olive tree cultivars and geographical locations (Zhu et al., 2013; Galán et al., 2001a). Several studies have reported that the weather-related variable that is most influential for olive tree flowering is the temperatures during the months prior to anthesis (Galán et al., 2001a, b; Rojo and Pérez-Badía, 2015a). The floral phenological behaviours of olive trees are very consistent in response to similar meteorological conditions and are independent of latitude variations (Orlandi, 2005). *Olea* pollen in the air is influenced by several factors, such as time of day, season, weather conditions, geographical locations of sources (Fernández-Rodríguez et al., 2016) and the vegetation type that dominates one area (Charalampopoulos et al., 2018).

It is for this reason that detailed mapping of the vegetation must be

available, from which the pollen sources can be identified (Skjøth et al., 2013; Maya-Manzano et al., 2017b). Airborne pollen counts in areas with different levels of urbanization reveal differences in the number of pollen types recorded (Fernández-Rodríguez et al., 2014b; Skjøth et al., 2013). Therefore, to know the distributions of ornamental plants with potentially allergenic pollen and its phenology allows to create urban risk maps (Pecero-Casimiro et al., 2019) and to take preventive measures that allows better preparation by hospital emergency services, which are often saturated during periods of high pollen levels (Galán et al., 2001a; Charalampopoulos et al., 2018). Also to reduce the pollen exposure and to initiate treatment at the appropriate times (Monroy-Colín et al., 2018; Tedeschini et al., 2006). The pollen distributions within cities depend on various factors such as microclimates, the spatial locations of trees, the predominant wind directions as related to source locations and the building heights (Maya-Manzano et al., 2017b; Charalampopoulos et al., 2018; Fernández-Rodríguez et al., 2018). Geostatistical techniques and geographic information systems have been used recently for modelling olive tree flowering. These tools provide reliable interpretations of aerobiological data and the factors involved in airborne pollen dispersal (Rojo and Pérez-Badía, 2015a). Recently, there has been an increase in the mapping of these trees in urban environments (Maya-Manzano et al., 2017a) and in regional areas to model pollen intensities (Rojo et al., 2016; Aguilera et al., 2015b).

Based on previous aerobiological analyses in the study area (Fernández-Rodríguez et al., 2014a) and in nearby locations (Hernández-Ceballos et al., 2011a), long-distance transport episodes should be considered in the study of the temporal cycles of pollen concentrations and their attribution to local sources (Skjøth et al., 2012). Furthermore, regional scale transport of olive tree pollen can result in increased nightly concentrations of this important aeroallergen (Fernández-Rodríguez et al., 2014a). A number of studies have examined the long-distance transport episodes (LDT) of airborne pollen grains and have attempted to identify their sources, e.g., the pollen types from trees such as *Betula* spp. (Skjøth et al., 2014; Skjøth et al., 2007); *Quercus* spp. (Hernández-Ceballos et al., 2011b; Hernández-Ceballos et al., 2014; Maya-Manzano et al., 2016) and *Olea* spp. (Fernández-Rodríguez et al., 2014a; Hernández-Ceballos et al., 2011a, 2012). In this sense, this mapping, combined with dispersion models as Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory (HYSPLIT), (Draxler and Hess, 1998) can be helpful for achieving a full understanding of some of the discrepancies between pollen content and phenology. In this work, the backward dispersion calculation for particles was used, and it provided information for the characteristics of air-mass movements over a region, in terms of their origin, horizontal pathways and altitudes. This information also provides detailed information on the paths followed by air masses until its arrival over the study area and is therefore a useful tool for a range of scientific applications that are related to air-quality analysis (Hernández-Ceballos et al., 2011b).

The aim of this study is to evaluate the relationships of airborne *Olea europaea* pollen recorded by the pollen trap and the arrangements of olive trees within the city of Badajoz (Spain), and to relate the influence of vegetation through the study of phenology to the presence of pollen in the air. Additionally, some LDT were analysed to determine the possible arrival of air masses from distant places during these divergences between the phenological and pollen peaks.

2. Material and methods

2.1. Study area

This study was conducted in Badajoz, a city in the SW of Spain with 150 543 inhabitants (NSI, 2018). The city is 184 m above sea level and is crossed by the Guadiana River with the Gévora River as a tributary. Daily meteorological data were provided by the National

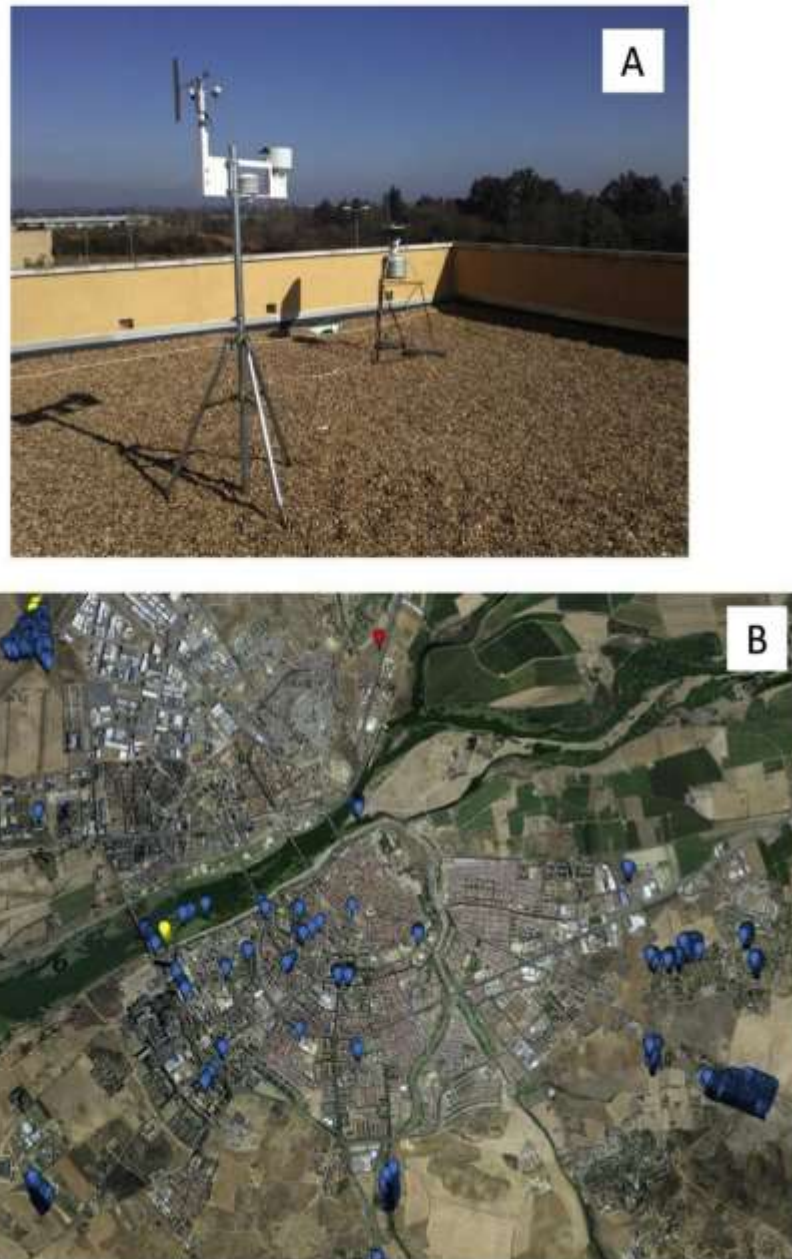


Fig. 1. A. Pollen trap and portable weather station (WS-GP1 Delta-T). B. Geolocation of *Olea* trees, Spore trap (red dot). Olive trees (blue dots). Specimens whose phenology was studied (yellow dots). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Meteorology Agency (AEMET) from a meteorological station located at 38° 53'00" N, 6° 48'50" W, which was 3.7 km from the aerobiological sampler. This station provided data of Mean, maximum and Minimum temperature (°C), rain (L/m²), wind direction (km/h) and wind direction (degrees). Moreover, for hourly data, a portable weather station (WS-GP1 Delta-T) was located 2 m from the pollen trap (Fig. 1A) to achieve more similar results to the pollen sampling point. The portable meteorological station data were recorded every 10 min, and included temperature (°C), rain (mm), relative humidity (%), wind speed (m s⁻¹) and wind direction (grades) and provided data for the four years of the study. To process the wind direction data, 10-minute values were transformed into 30° sections (12 values) and the modes of the hourly

data were calculated; for the remaining meteorological parameters, average values were used except for rain, for which the sums were calculated.

2.2. *Olea* trees mapping

Olea europaea trees in the city were examined during the period of this study (2016–2019) and were counted and geo-referenced on a map (Fig. 1B) and included ornamental or urban green areas and the city outskirts. Also, the mapping for those specimens whose phenology was studied have been included (Fig. 1B). Major olive tree pollen sources were identified using the Corine Land Cover (CLC) 2006 v. 17 datasets

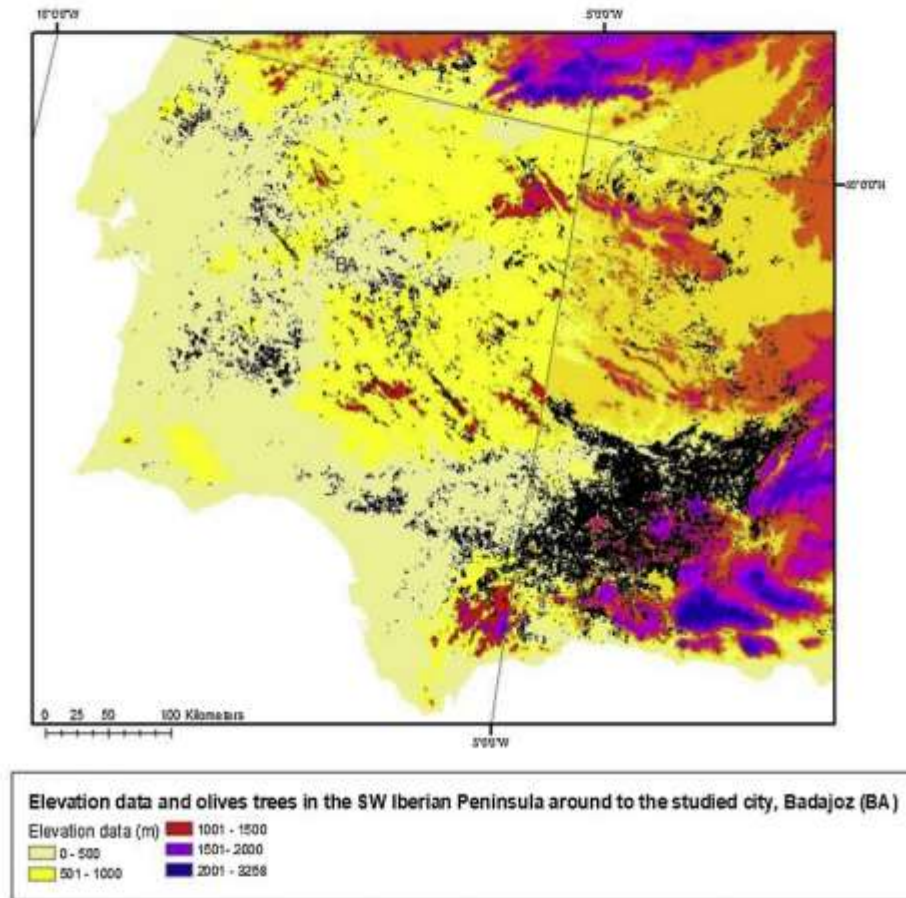


Fig. 2. Mapping sources of olive pollen of the Iberian Peninsula with olive groves (black colour) from CLC and elevation data in Badajoz (BA). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

for the studied area (EC, 2013). The inventory maps were gridded using the CLC 2012 projection by aggregating the grid cells to 20 km × 20 km using procedures similar to Sadyk et al. (2014) and Skjoth et al. (2012). This procedure enables easy comparisons of habitat densities at regional and national scales. Olive trees appear as agricultural areas with permanent crops and are denoted as olive tree groves (code 223). Furthermore, layers of the elevation data of the Iberian Peninsula were used (Fig. 2).

2.3. Pollen sampling

Olea pollen grains were collected using a Burkard seven-day pollen trap (Hirst, 1952). The trap was located on a 6 m high terrace and was placed in the Agricultural Engineering School, in Badajoz at SW Iberian Peninsula (38°53' N, 6°58' W) (Fig. 1). Standardized data management procedures for capturing and counting airborne pollen were used, according to the Spanish Aerobiology Network (REA) (Galán et al., 2007). Pollen records were expressed as the numbers of pollen grains per cubic metre of air (pollen grains /m³). The method used to calculate the MPS was the proposed by Nilsson and Persson (1981), which considers the 90% for the whole annual pollen amount (Fig. 3).

2.4. Phenological analysis

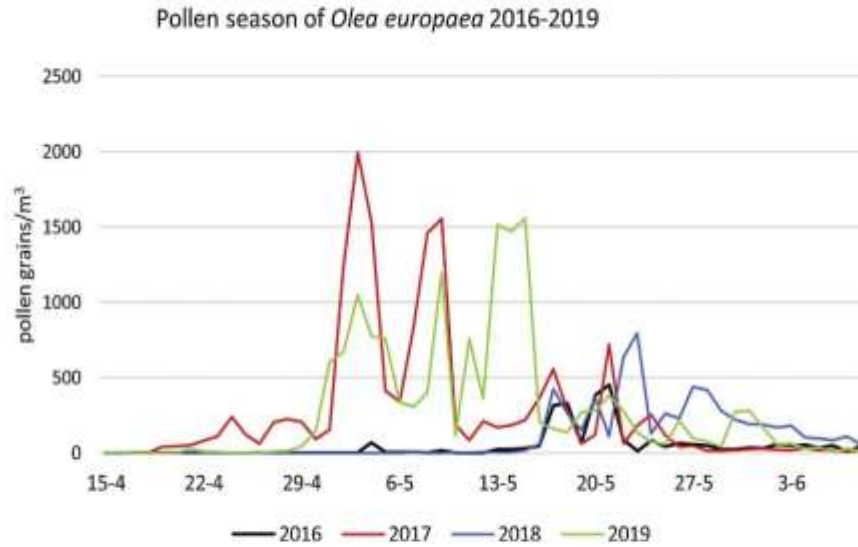
The phenological phases studied were recorded according to the BBCH code (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt, Chemische

Industrie) (Meier, 1997). This is an internationally recognized standard in the agricultural sector and classifies plant growth phases according to a standardized system (Meier, 2001). From 15 specimens, but only on sunny days and with calm winds at noon, pollen shedding was mechanically tested from 10 branches at 1.5–2 m height that were touched or shaken, during four years (2016–2019) from April to July. Five specimens were 4 km from the pollen station; five specimens were 3.6 km distant; and five specimens were 3 km distant, while an average sampling frequency of 3–4 days was used. Specimens close to the pollen trap are shown in Fig. 1B. The plots for the MPS and the phenological analysis is shown in Fig. 4.

The percentages of pollen shedding were recorded from beginning of flowering with 10% open flowers (BF, BBCH 61) up to full flowering (FF, BBCH 65, general flowering or full blossom) when at least approximately 50% of the flowers were open. This methodology has also been previously used in other works (Monroy-Colín et al., 2018).

2.5. HYSPLIT analysis

The air mass transport patterns above Badajoz were examined using daily 24-hs backward dispersion analysis, following the methodology explained in previous works (De Weger et al., 2016). According to the hourly analysis (Fig. 5), the maximum peaks for 2017 and 2018 were observed from 13–15 hours (Fig. 5B and C), and it was the time set up for the arrival of air masses. These plumes were calculated with the HYSPLIT model (Draxler and Hess, 1998; Draxler and Rolph, 2014;

Fig. 3. Pollen Season of *Olea europaea* 2016–2019.

Rolph, 2014). The Global Data Analysis System (GDAS) data with 0.5×0.5 -degree resolution were downloaded from the NOAA ARL (National Oceanic and Atmospheric Administration Air Resources Laboratory) FTP server. The position for the particles in the layers of the atmosphere was studied, from 0 to 4 000 m height (AGL), and the starting time of 15 h for two consecutive days before each episode were calculated to trace the path that the air masses followed. They were during the mismatches between the MPS period and the phenological phenophases from 2016 to 2019. The results are displayed in Fig. 7.

2.6. Statistical analysis

After checking the normality by using the Kolmogorov-Smirnov test and due to the negative results, that were obtained, non-parametric statistics was applied. The Spearman's rank coefficient test was used to analyse the associations between pollen concentrations and meteorological parameters (temperature, rain, relative humidity, wind frequency and wind speed). To determine what temperature recorded the most pollen, a graphical analysis was performed that summed the daily pollen concentrations for each average temperature. The statistical

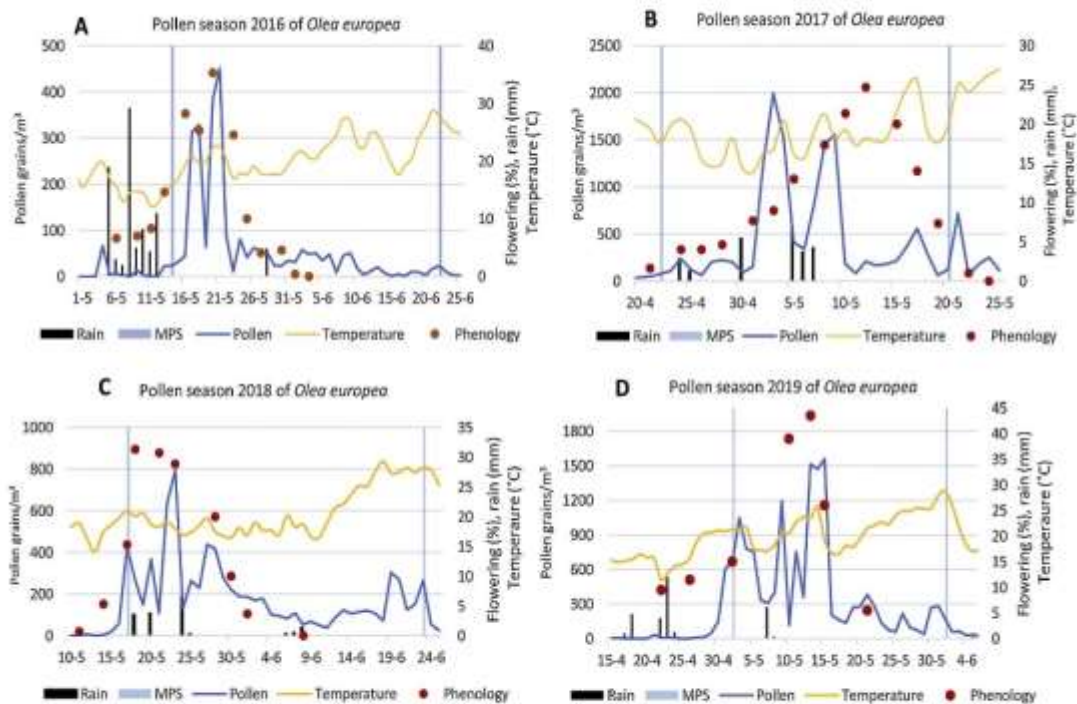


Fig. 4. Daily airborne olive pollen concentration (blue lines), mean temperature (orange lines), rain (black bars), MPS dates for start and end (blue bars) and phenology (red dots), 2016 (A), 2017 (B), 2018 (C) and 2019 (D). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

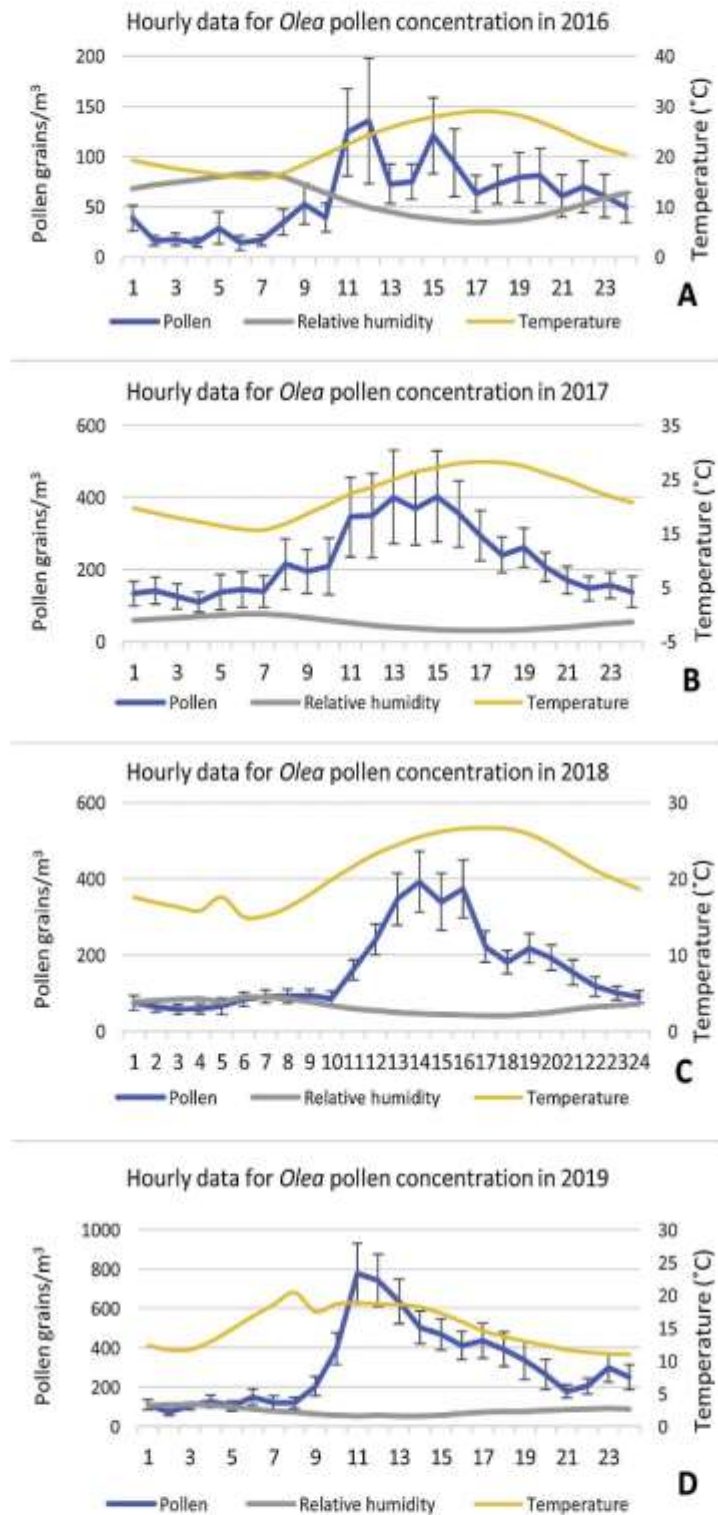


Fig. 5. Hourly data for *Olea* pollen concentrations in 2016 (A), 2017 (B), 2018 (C) and 2019 (D), including error bars and average for relative humidity and mean temperature.

Table 1

Pollination phenology of *Olea europaea* (2016–2019). The onset, finish and maximum dates are related to the flowering period.

	Onset date	Finish date	Maximum	Length (days)	T_{mean} °C (two months before the flowers opened)
2016	06-May	01-Jun	20-May	26	12.8
2017	21-Apr	24-May	12-May	33	15.3
2018	11-May	06-Jun	18-May	28	13.1
2019	22-Apr	21-May	13-May	30	14.2

analysis was performed with the package R (R Core Team, 2018). The calculations for the MPS and other parameters for the MPS were carried out by the package AeRobiology (Rojo et al., 2019).

3. Results

In the entire city of Badajoz and the immediate surroundings, a total of 2217 *Olea europaea* trees were counted (Fig. 1B). Most of the olive tree crops in the Iberian Peninsula are located below 765 m in elevation and are concentrated mainly in the south (Fig. 2). Olive tree flowering in Badajoz started the last week in April and finished the second week in June, with a maximum in the second week of May (Table 1 and Fig. 4). The flowering started two weeks earlier in 2017 (Table 1 and Fig. 3). The average temperature in the two months before the flowers opened was higher in 2017 and 2019 (Table 1). 2017 and 2019 presented high pollen concentrations (Table 2 and Fig. 3). In 2016, the phenological period ranged from 06/05–03/06, with a maximum on 20/05 (Table 1); pollen recorded outside this period represented the 19.83% of the total pollen. Maximum pollen concentrations were reached only one day after relative to the maximum pollination phenophase (Fig. 4A). For 2017, the Phenological period ranged from 21/04–19/05 (Table 1), with a maximum on 12/05; pollen records outside this period represented the 14.54% of the total pollen. Maximum pollen concentrations were reached nine days before the maximum pollination phenophase (Fig. 4B). By contrast, in 2018 the Phenological period ranged from 11/05–01/06, with a maximum on 18/05 (Table 1); pollen records outside this period represented the 36.71% of the total pollen. The maximum pollen concentrations were reached five days later relative to the maximum pollination phenophase (Fig. 4C). In 2019, the Phenological period ranged from 22/04–21/05 (Table 1), with a maximum on 13/05; pollen records outside this period represented the 14.83% of the total pollen. Maximum pollen concentrations were reached two days later relative to the maximum pollination phenophase (Fig. 4D).

The phenological observations of *Olea europaea* (Table 1) indicate that pollination occurred for 26.5 days as the 4-year-average and was

mostly within the period of the airborne pollen records (Fig. 4). The pollen record dates outside the phenological observations represented 19.29%. 4.35% of pollen was detected before the pollen season and 3.89% of pollen was detected after the pollen season. In 2016 and 2019, the maximum pollen concentrations coincided with the maximum of the phenology periods, however, in 2017 and 2018 they did not. In 2017, the maximum concentration of pollen occurred nine days before the maximum of the phenology period, while in 2018, it occurred five days later than the phenological maximum (Table 1 and Fig. 4).

In 2016, the SPIn (Seasonal Pollen Integral, Galán et al., 2017) for the period studied was 2 606 pollen*day/m³ (Table 2). The daily peak was reached on 21/05 (451 pollen grains/m³ (Fig. 4A), 18 days later than in 2017 (03/05), when a concentration of 1 994 pollen grains/m³ was reached (Table 2 and Fig. 4B). In 2017, the SPIn was 14 015 pollen*day/m³, while in 2018 it was 7 894 pollen*day/m³ (Table 2) and the daily peak value for pollen concentration reached 794 pollen grains/m³ (23/05) (Fig. 4C). 2019 was the year with the highest SPIn, (considering the first semester data) with a total of 14 823 pollen*day/m³ (Table 2), and the daily peak reached 1 558 pollen grains/m³ (15/05) (Fig. 4D).

Table 2 show the SPIn for the studied period and the Spearman's correlations for meteorology and daily concentrations regarding the MPS. Fig. 5 shows the hourly concentration patterns for 2016 (Fig. 5A), 2017 (Fig. 5B), 2018 (Fig. 5C) and 2019 (Fig. 5D). During the four study years, the highest concentrations were found after noon, and we found a direct correlation with temperature increases and humidity decreases in the atmosphere. In addition, the statistical analysis indicates a positive correlation with wind speed and negative with wind frequency (Table 3). Fig. 6 shows the frequency of wind directions, and the highest concentrations appeared when the winds were predominantly W and SW.

The pollen season of 2016 and 2019 were explained well because of local flowering conditions (Fig. 4A and D), but not for 2017 and 2018 (Fig. 4B and C). For these years, the years with the greatest difference between the maximum pollen concentrations and the maximum phenological status, the backward dispersion calculation are displayed in Fig. 7. They were the most likely to be due to LDT episodes. Thus, we can understand the effects of long-distance transport that arrived from the SE zone of Andalusia (Fig. 7A and B), which coincides with the region of greater *Olea* crop concentrations within the Iberian Peninsula (Fig. 2). Moreover, we can observe that even for the episode occurred on 3rd May 2017, some particles are coming from Portugal contained in air masses travelling for higher layers (> 2 000 m AGL). For 2016, the difference between the maximum pollen concentration and the maximum phenology was one day (Tables 1 and 2). For 2018, the difference between the maximum pollen concentration and the maximum phenology was five days (Tables 1 and 2). The air masses came mostly from the SW (Fig. 6C), but for the episodes of higher concentrations out of

Table 2

SPIn (Seasonal Pollen Integral) values, mean pollen season characteristics and Spearman's rank correlation coefficients for daily values daily values of *Olea europaea* 2016–2019 with rain (mm), Minimum (T_{min}), Maximum (T_{max}) and mean temperature (T_{mean}), in °C, and Wind Speed ($m s^{-1}$).

	Seasonal pollen integral (SPIn) pollen*day m ⁻³	Spearman's rank coefficient rank					Mean pollen season (MPS)	
		Rain	T_{min}	T_{max}	T_{mean}	Wind speed	Length	Maximum pollen concentration
2016	2606	0.11	−0.04	−0.19	−0.12	−0.11	14/05 to 22/06 (40 days)	21/05 (451 pollen grains/m ³)
2017	14,015	−0.22	0.01	0.09	0.1	−0.01	27/04 to 25/05 (29 days)	03/05 (1994 pollen grains/m ³)
2018	7894	−0.04	−0.15	0.06	0.01	−0.09	17/05 to 23/06 (38 days)	23/05 (794 pollen grains/m ³)
2019	14,823	0.12	−0.07	−0.22	−0.2	−0.28	02/05 to 01/06 (31 days)	15/05 (1558 pollen grains/m ³)

* Significance at the 95% level. ** significance at the 99% level.

Table 3

Spearman's rank correlation coefficients between hourly values of *Olea europaea* 2016–2019 during their MPS and hourly meteorological parameters.

	Hourly values with the highest pollen concentration	Hourly values with the lowest pollen concentration	Statistically significant correlation			
			Relative humidity	Wind speed	Temperature	Wind frequency
2016	10:00–15:00	22:00–09:00	–0.64**	–0.74**	0.59**	–0.64**
2017	11:00–18:00	23:00–07:00	–0.73**	0.89**	0.73**	–0.76**
2018	13:00–18:00	22:00–09:00	–0.84	0.42*	0.86*	–0.84**
2019	10:00–17:00	23:00–08:00	–0.82**	0.27	0.43*	–0.59**

* Significance at the 95% level.

** Significance at the 99% level.

the flowering season (they produced high peaks when the flowering was decreasing), was found that the air masses were coming from distant places in Portugal (7C, 7D, 7E and 7F). Finally, for 2019, at the time of the maximum pollen concentration, the dominant wind direction was from the SW, the place where the most of trees are dispersed within the city (Fig. 1 and D).

4. Discussion

The pollen season parameters were measured in the current work were similar to those reported by Aguilera et al. (2015b); Rojo and Pérez-Badía (2015b) and Rodríguez-De la Cruz et al. (2010), who reported maximum pollen peaks in the third week of May, but with lower values than reported in this work. However, the start date coincides with the reports for some Mediterranean cities in Tunisia and southern Spain in the hottest years (2017 and 2019) (Table 1), and these cities were those with average temperatures very similar to those found in Badajoz in those years. The dates for the beginning of the season during the coldest years were coincident with the reported by Aguilera et al. (2015b) in some Italian cities with continental climate. Latitude-induced microclimatic conditions determine the physiological responses of olive trees. In particular, the peak pollen emission date, which corresponds to the day on which most of the tree canopy flowers are open, is influenced strongly by this factor (Aguilera et al., 2015b). The current findings confirmed that the air pollen counts were determined by the flowering succession (Rojo and Pérez-Badía, 2015b). *Olea* pollen was detected in the atmosphere of Badajoz from April to July. The flowering dates of the olive trees in the city of Badajoz coincided with that

reported by Fornaciari et al. (2000); González and Candau (1997) and Trigo et al. (2008) who reported that the flowering period in the Mediterranean area for the genus *Olea* generally occurred between April and June. Moreover, other authors in Spain have also reported that flowering took place at the end of May and in the beginning of June (Rojo and Pérez-Badía, 2015a; Galán et al., 2001a; González and Candau, 1997).

From a phenological point of view, come early the onset of the flowering period can be interpreted as a defence mechanism or an adaptive phenomenon of the olive tree physiology to the higher temperatures expected in the future and, above all, to the increases projected for the spring temperatures (Aguilera et al., 2015a). It has been observed that olive trees with constant maintenance and irrigation initiate flowering earlier and have longer flowering periods (Aguilera et al., 2013). Aguilera and Ruiz (2009) indicated that the accumulated temperature and precipitation during the months prior to the flowering period greatly favour the phenological development of the olive tree, and significantly affect the processes of flower formation and the release of pollen grains into the atmosphere. Otherwise, precipitation washes the atmosphere and causes a decrease and discontinuity in the presence of pollen in the atmosphere.

It has been evidenced, using partial least-squares regression, that the reproductive phenology of olive trees in the Mediterranean area is regulated by meteorological parameters that are related to the previous autumn and to both the winter and spring seasons, and, above all, by the temperatures (Aguilera et al., 2015a). Moreover, an increase in temperature before the beginning and advance of flowering play a relevant role in the biological cycle (Bonafiglio et al., 2008), and studies

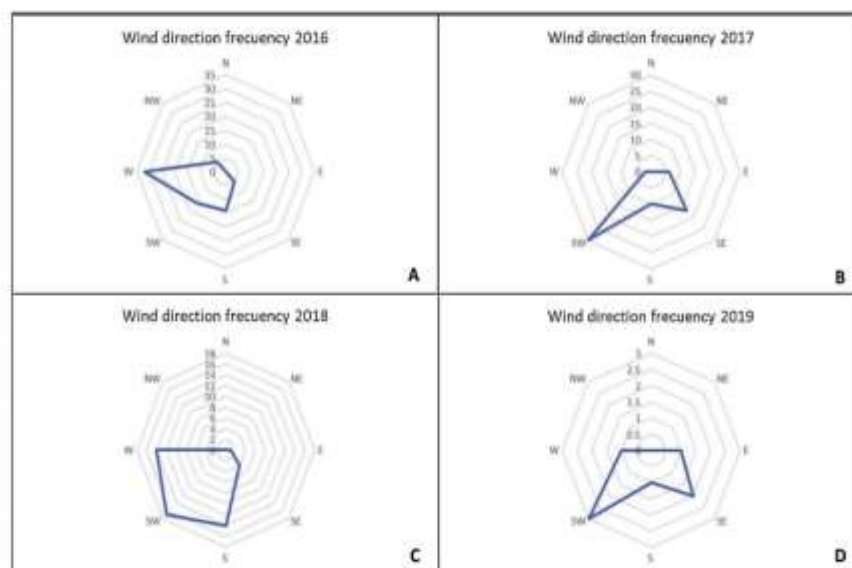


Fig. 6. Wind direction frequency during pollen season of *Olea europaea* in 2016 (A), 2017 (B), 2018 (C) and 2019 (D).

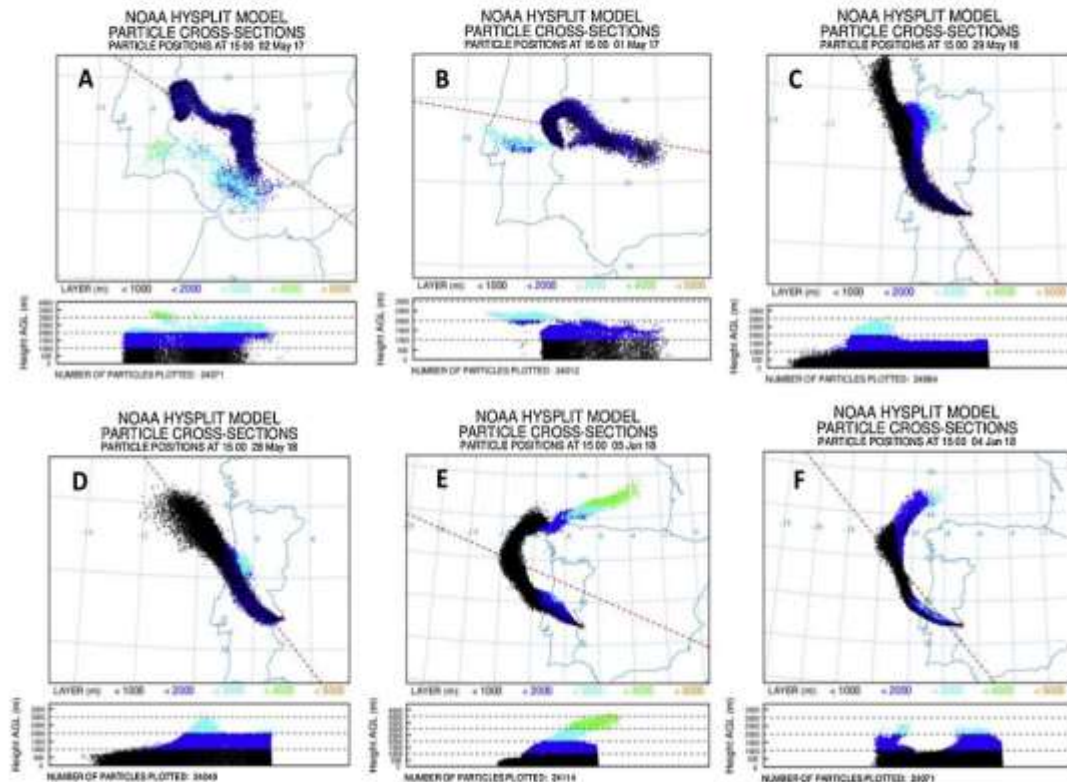


Fig. 7. HYSPLIT model calculation for the 24-h back-distribution of particles released in Badajoz for the mismatches between pollen peaks and flowering peaks in 2017 (May 3rd A and B) and 2018 (May 30th C and D, and June 6th E and F).

show that in the coldest years, the flowering period is shorter (Tedeschini et al., 2006), while in the warmer years, the buds break earlier and in this manner, flowering commences. González and Candau (1997) in a study in Sevilla, indicated that the beginning of the main pollination period was related to the mean temperature of the two preceding months and that pollination occurred when the average temperature in both months was above 14 °C. In contrast, pollination was delayed when the average temperature was lower. This agrees with the results of this study (Table 1), with the opening of flowers occurring earlier in the hottest two years and with temperatures above 14 °C (2017 and 2019). In addition to the release of pollen occurring gradually, this phenomenon could explain the differences in the beginning dates and durations of flowering in 2017 and 2019 (Rojo and Pérez-Badía, 2015a; García-Mozo et al., 2008; Tedeschini et al., 2006). Excessive temperatures negatively influenced several reproductive parameters, including flower development, pollen-tube growth, pollen viability, and the pollination process and, consequently, subsequent fertilization and productive yields (Aguilera et al., 2013). Other meteorological factors considered in relation to the phenology were humidity, cumulative rainfall and cumulative solar radiation (Aguilera and Ruiz-Valenzuela, 2009). High relative humidity sometimes can delay or even inhibit anther opening and pollen release (Yates and Sparks, 1993; Lászi et al., 1994). This could be another explanation for the observed discrepancies, as shown in Fig. 4, in which it is possible to see the influence of rainfall. The associated increase in the relative humidity provoked by rain during months with high temperatures can provoke that pollen remains more time in the anthers, and brief showers can also precipitate the abrupt deposition of pollen into the ground.

The values for the cumulative annual pollen mentioned in this study are only lower than those for Córdoba, Jaen and Granada, as reported

for Spanish cities that present amounts above 22,000 pollen*day/m³ (Rojo et al., 2016). The *Olea* concentration values on the peak days ranged from 414 pollen grains/m³ in 2016 to 1994 pollen grains/m³ in 2017, and the interannual variability in the different variables that define the pollen season is remarkable. Regarding the concentrations of *Olea* grains found on both the peak days and during the pollen season, it should be noted that the olive tree is recognized as a species with alternation in flowering (Galera et al., 2018), which depends on vegetative and reproductive processes, and occurs throughout a biennial cycle (Rallo and Cuevas, 2001); hence a part of the interannual fluctuations is associated with this phenomenon (Galera et al., 2018). *Olea* pollen concentrations on both the peak days and in the pollen seasons (Table 2) show important interannual variations, and those years with low concentrations (2016 and 2018) are followed by years with high concentrations (2017 and 2019). This effect seems to be due to the alternate bearing years of pollen production by this species (Rojo et al., 2015c) and coincides with that reported by Galera et al. (2018) for the city of Cartagena, where the same effect was seen.

Considering some mismatches between phenology and pollen (Fig. 4) and for the backward dispersion calculation analyses (Fig. 7), we suggest that for 2017 and 2018, the pollen outside the flowering season originated from distant sources (Fernández-Rodríguez et al., 2014a). Specifically, for 2017 the peak for pollen was produced quite before the flowering peak (9 days earlier), that could be due to pollen contributions from the SE of Badajoz, and for 2018 the episodes showed air masses arriving from Portugal. Pollen transport from remote sources is particularly relevant for species with small pollen size, such as the olive tree. Other authors (Estrella et al., 2006) have also argued that the discrepancy between pollen and phenology is due to LDT episodes. The pollen quantities that were recorded in 2017 before the flowering of olive trees in the area must have been transported by winds from south

and southeast of Spain, where the olive trees flowered sooner due to higher temperatures and where earlier-flowering varieties are more widely grown (García-Mozo et al., 2008). Specifically, winds from the south (May 3, 2017) could have carried pollen from the olive tree groves in the Andalusian provinces of Jaén and Granada which, along with Córdoba, have the largest olive tree growing areas in Spain. Additionally, another pollen source in the west part of the territory could correspond to the Alentejo region, which hosts nearly half of the olive tree groves of Portugal (Fernández-Rodríguez et al., 2014a). It could be the reason for the episodes shown in Fig. 7 regarding 2018. Our results are consistent with the findings of Silva-Palacios et al. (2000) and Fernández-Rodríguez et al. (2014), who demonstrated that, in Badajoz, there were significant correlations between the daily pollen concentrations of *Olea* and the amounts of wind hours each day from the southeast, southwest and northwest quadrants. In this study, the HYSPLIT model has been proven to be an adequate tool to estimate the directions taken by air masses and to identify the sources of pollen originating from long distances outside the pollen season in the same region than for the current study (Maya-Manzano et al., 2016). Finally, we cannot discard the occurrence of some contribution from re-suspension phenomena, especially in 2018. This fact has been proven to be important, above all in favourable conditions of high temperature and absence of rain (Jato et al., 2006). In addition to the importance of temperature, this study highlights the importance of wind, whether for long-distance transportation or for nearby areas for those moments in that flowering peaks and pollen peaks are not coincident. This is probably related to the fact that the prevailing winds are from the west (Fig. 5), where there are sources of olive tree pollen and that some of the highest densities of olive tree groves in the Iberian Peninsula are found in the southeast (Fig. 3).

5. Conclusions

This type of studies facilitate better planning for the management of olive tree crops in the region because they are useful to establish future predictions of the start of olive tree flowering. LDT phenomena and delays in the flowering caused by environmental conditions may lead to a non-exact match between the phenological and aerobiological peaks. At the aerobiological level, LDT can be recognized by sudden appearances or increases (peaks) that are sometimes coincident in different locations or by changes in the trends of atmospheric pollen dynamics, and LDT can be demonstrated using atmospheric models of air mass dynamics. Backward dispersion calculations need to be combined with knowledge of the geographical distributions and phenological characteristics of the pollen sources, as well as with pollen concentration data of high temporal resolution, to clearly identify the origins of pollen measured at a monitoring site. This information is extremely useful for predicting the amounts of airborne *Olea* pollen in the city of Badajoz and for other cities with similar conditions.

Author statement

Alejandro Monroy-Colín, Methodology Development or design of methodology; creation of models. Software Programming, software development; designing computer programs; implementation of the computer code and supporting algorithms; testing of existing code components. Writing - Original Draft Preparation, creation and/or presentation of the published work, specifically writing the initial draft (including substantive translation). Writing - Review & Editing Preparation, creation and/or presentation of the published work by those from the original research group, specifically critical review, commentary or revision - including pre or postpublication stages.

José María Maya-Manzano Formal analysis Application of statistical, mathematical, computational, or other formal techniques to analyze or synthesize study data. Visualization Preparation, creation and/or presentation of the published work, specifically visualization/

data presentation.

Rafael Tormo-Molina Conceptualization Ideas; formulation or evolution of overarching research goals and aims. Supervision Oversight and leadership responsibility for the research activity planning and execution, including mentorship external to the core team.

Raúl Pecero-Casimiro Validation Verification, whether as a part of the activity or separate, of the overall replication/ reproducibility of results/experiments and other research outputs. Data Curation Management activities to annotate (produce metadata), scrub data and maintain research data (including software code, where it is necessary for interpreting the data itself) for initial use and later reuse.

María Ángeles Gonzalo-Garijo3 Resources Provision of study materials, reagents, materials, patients, laboratory samples, animals, instrumentation, computing resources, or other analysis tools. Project administration. Management and coordination responsibility for the research activity planning and execution.

Santiago Fernández-Rodríguez Investigation Conducting a research and investigation process, specifically performing the experiments, or data/evidence collection. Funding acquisition Acquisition of the financial support for the project leading to this publication

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

This work was made possible by funds from research projects PRIIB16029 and research group said GR18113, financed by the Regional Government, Junta de Extremadura (Spain), the funds and by the support of the National Commission of Science and Technology of Mexico (CONACYT), with funds from A.M.C. and funds from Irish Environmental Protection Agency (EPA, programmer 2014-2020, Climate, 2017), which funded to J.M.M.M. during part of the conduct of this study. Finally, authors acknowledge the NOAA ARL for the provision of the HYSPLIT model and the meteorological input data (GDAS archive).

References

- Allinolfi, C., Suárez-Vázquez, G.P., Carriñanos, P., 2014. Relation between visitors' behaviour and characteristics of green spaces in the city of Granada, south-eastern Spain. *Urban For. Urban Green.* 13, 534–542.
- Aguilera, F., Ruiz, L., 2009. Study of the floral phenology of *Olea europaea* L. in Jaén province (SE Spain) and its relationship with pollen emission. *Aerobiología* 25, 217–225.
- Aguilera, F., Orlandi, F., Ruiz, L., Galán, C., García-Mozo, H., Bonafiglio, T., Oteros, J., Díaz de la Guardia, C., Trigo, M.M., Pérez, R., Fornaciari, M., 2013. La floración del olivo (*Olea europaea* L.) como elemento bioindicador de cambios en el clima mediterráneo: análisis preliminar. Proceedings of the El aceite de Oliva. Actas simposio Expoliva 2013. Jaén (España) 8–11 mayo.
- Aguilera, F., Fornaciari, M., Ruiz-Valenzuela, L., Galán, C., Mollén, M., Oteros, A.B., Díaz de la Guardia, C., Trigo, M.M., Bonafiglio, T., Orlandi, F., 2015a. Phenological models to predict the main flowering phases of olive (*Olea europaea* L.) along a latitudinal and longitudinal gradient across the Mediterranean region. *Int. J. Biometeorol.* 59 (May (5)), 629–641.
- Aguilera, F., Ben, A., Mollén, M., Orlandi, F., Bonafiglio, T., Ruiz-Valenzuela, L., Galán, C., Díaz de la Guardia, C., Giannelli, A., Trigo, M.M., García-Mozo, H., Pérez-Blado, R., Fornaciari, M., 2015b. Airborne-pollen maps for olive-growing areas throughout the Mediterranean region: spatio-temporal interpretation. *Aerobiología* 31, 421–434.
- Bonafiglio, T., Orlandi, F., Sgroi, C., Romano, B., Fornaciari, M., 2008. Influence of temperature and rainfall on timing of olive (*Olea europaea* L.) flowering in southern Italy. *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.* 36, 59–69.
- Bruno, E., Chmielewski, F.M., VanVleet, A.J., 2013. The global phenological monitoring concept. In: Schwartz, M. (Ed.), *Phenology: An Integrative Environmental Science*. Springer, Berlin 2.6.1–12.
- Carriñanos, P., Casares-Forcel, M., 2011. Urban green zones and related pollen allergy: a review. Some guidelines for designing spaces with low allergy impact. *Landscape Urban Plan.* 101, 205–214.
- Carriñanos, P., Casares-Forcel, M., Quesada-Rubio, J.M., 2014. Estimating the allergenic

- potential of urban green spaces: a case study in Granada, Spain. *Landsc. Urban Plan.* 123, 134–144.
- Carter, J.M., Orive, M.E., Gohhart, I., Stern, J.H., Marchis, R.M., Nagel, J., et al., 2017. Warmest extreme year in its history alters thermal requirements for tree phenology. *Oecologia* 183, 1197–1210.
- Charalampopoulos, A., Lazarini, M., Tsidipidis, I., Vukos, D., 2018. Quantifying the relationship between airborne pollen and vegetation in the urban environment. *Aerobiologia* 34 (3), 285–300.
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., Liccardi, G., Popov, T., Van Cauwenberg, P., 2007. Allergic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy* 62, 976–990.
- De Weger, L.A., Pashley, C.H., Šikoprija, B., et al., 2016. The long distance transport of airborne Ambrosia pollen to the UK and the Netherlands from Central and south Europe. *Int. J. Biometeorol.* 60, 1829–1839. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1170-7>.
- Draxler, R.R., Hess, G., 1998. An overview of the HYSPLIT4 modelling system for trajectories, dispersion and deposition. *Aust. Meteorol. Mag.* 47 (4), 295–308.
- Draxler, R.R., Rolph, G., 2014. HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory) Model Access Via NOAA ARL READY Website. NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD. <http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>.
- EC, 2013. Corine Land Cover 2006 Raster Data. European Commission, Joint Research Centre (DG JRC), Institute for Environment and Sustainability, Land Management Unit, I-21020 Ispra (VA), Italy. <http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/corine-land-cover-2006-raster-3>.
- Estrella, N., Menzel, A., Krümer, U., Behrendt, H., 2006. Integration of flowering dates in phenology and pollen counts in aerobiology: analysis of their spatial and temporal coherence in Germany (1992–1999). *Int. J. Biometeorol.* 51, 49–59. <https://doi.org/10.1007/s00484-006-0038-7>.
- Fernández-Rodríguez, S., Skjøth, C., Tormo-Molina, R., Brandao, R., Garcia, E., Silva-Palacios, I., 2014a. Identification of potential sources of airborne Olea pollen in the Southwest Iberian Peninsula. *Int. J. Biometeorol.* 58, 337–348.
- Fernández-Rodríguez, S., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J.M., Silva-Palacios, I., Gonzalo-Garjón, A., 2014b. Comparative study of the effect of distance on the daily and hourly pollen counts in a city in the south-western Iberian Peninsula. *Aerobiologia* 30, 173–187.
- Fernández-Rodríguez, S., Durán-Barroso, P., Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J.M., Gonzalo-Garjón, A., 2016. Regional forecast model for the Olive pollen season in Extremadura (SW Spain). *Int. J. Biometeorol.* 60, 1509–1517.
- Fernández-Rodríguez, S., Gurtés-Pérez, J.F., Prieto, P., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J.M., 2018. Environmental impact assessment of Pinaceae airborne pollen and green infrastructure using BIM. *Autum. Constr.* 96, 494–507.
- Ferrara, G., Campano, S., Palasciano, M., Godini, A., 2007. Production of total and staminate pollen grains in Olea europaea L. *Grana* 46 (2), 85–90.
- Formaiari, M., Galán, C., Mediavilla, A., Domínguez, E., Romoño, B., 2000. Aeropolynological and phenological study in two different Mediterranean olive areas: cordoba (Spain) and Perugia (Italy). *Plant Biosyst.* 134 (2), 199–204.
- Galán, C., Carrión, P., García-Mozo, H., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., 2001a. Model for forecasting Olea europaea L. Airborne pollen in South-West Andalusia, Spain. *Int. J. Biometeorol.* 45, 59–63.
- Galán, C., García-Mozo, H., Carrión, P., Alcázar, P., 2001b. The role of temperature in the onset of the Olea europaea L. Pollen season in southwestern Spain. *Int. J. Biometeorol.* 45, 8–12.
- Galán, C., Vázquez, L., García-Mozo, H., Domínguez, E., 2004. Forecasting olive (Olea europaea) crop yield based on pollen emission. *Field Crops Res.* 86, 43–51.
- Galán, C., Carrión, P., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., 2007. Spanish Aerobiology Network (REA) Management and Quality Manual. Servicio de Publicaciones Universidad de Córdoba ISBN 978-84-690-6353-6356.
- Galán, C., Alcázar, P., Otero, J., García-Mozo, H., Aira, M.J., Belmonte, J., Díaz de la Guardia, C., Fernández-González, D., Gutiérrez-Bustillo, M., Moreno-Grau, S., Pérez-Badía, R., Rodríguez-Rajo, F.J., Ruiz-Valenzuela, L., Tormo, R., Trigo, M.M., Domínguez-Vilches, E., 2016. Airborne pollen trends in the Iberian Peninsula. *Sci. Total Environ.* 550, 53–59.
- Galán, C., Ariatti, A., Bonini, M., Clot, B., Crouzy, B., Dahl, A., Fernández-González, D., Frenguelli, G., Gehrig, R., Isard, S., Levett, E., Li, D.W., Mandrioli, P., Rogers, C.A., Thihaudon, M., Sautiere, I., Skjøth, C.A., Smith, M., Sofiev, M., 2017. Recommended terminology for aerobiological studies. *Aerobiologia* 33 (3), 293–295.
- García, M., Elvén-Bendixen, B., Moreno, J., Negral, I., Ruiz-Abeledo, M., García-Sánchez, A., Moreno-Grau, S., 2018. Analysis of airborne Olea pollen in Cartagena (Spain). *Sci. Total Environ.* 622–633, 436–445.
- García-Mozo, H., Pérez-Badía, R., Galán, C., 2008. Aerobiological and meteorological factors influence on olive (Olea europaea L.) crop yield in Castilla-La Mancha (Central Spain). *Aerobiologia* 24, 13–18.
- González, F.J., Candau, P., 1997. Olea europaea airborne pollen in Southern Spain. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 78 (3), 278–284.
- Hernández-Ceballos, M.A., García-Mozo, H., Adame, J.A., Domínguez-Vilches, E., De la Morena, B., Bolívar, J., Galán, C., 2011a. Synoptic and meteorological characterization of olive pollen transport in Córdoba province (south-western Spain). *Int. J. Biometeorol.* 55, 17–24.
- Hernández-Ceballos, M.A., García-Mozo, H., Adame, J.A., Domínguez-Vilches, E., Bolívar, J., De la Morena, B., Pérez-Badía, R., Galán, C., 2011b. Determination of potential sources of Quercus airborne pollen in Córdoba city (southern Spain) using back-trajectory analysis. *Aerobiologia*. Online First. <https://doi.org/10.1007/s10453-011-9195-1>.
- Hernández-Ceballos, M.A., García-Mozo, H., Adame, J.A., Galán, C., 2012. Last advances in the study of olive airborne pollen dynamic. *Olive Consum. Health* 155–176.
- Hernández-Ceballos, M.A., García-Mozo, H., Galán, C., 2014. Cluster analysis of intradurnal holm oak pollen cycles at peri-urban and rural sampling sites in south-western Spain. *Int. J. Biometeorol.*
- Hiest, J.M., 1952. An automatic volumetric spore trap. *Ann. Appl. Biol.* 39 (2), 257–265.
- Jato, V., Rodríguez-Rajo, F.J., Alcázar, P., De Nuntis, P., Galán, C., Mandrioli, P., 2006. May the definition of pollen season influence aerobiological results? *Aerobiologia*. <https://doi.org/10.1007/s10453-005-9011-x>.
- Liel, M., Tania, C., Pacini, E., 1994. Pollination exophytology of Mercurialis annua L. (Euphorbiaceae), an anemophilous species flowering all year round. *Ann. Bot.* 74, 125–135.
- Llerena, J.L., Garrido, I., 2010. El olivar y sus industrias de transformación. In: Cobeto, J.M., Masera, E., González, R., Pulido, F. (Eds.), La Agricultura Y Ganadería Extremadura. Informe 2009. Caja de Badajoz, Badajoz, pp. 209–221.
- Maya-Manzano, J.M., Fernández-Rodríguez, S., Smith, M., Tormo-Molina, R., Reynolds, A., Silva-Palacios, I., Gonzalo-Garjón, A., Sady, M., 2016. Airborne Quercus pollen in SW Spain: identifying favourable conditions for atmospheric transport and potential source areas. *Sci. Total Environ.* 571, 1037–1047.
- Maya-Manzano, J.M., Tormo-Molina, R., Fernández-Rodríguez, S., Silva-Palacios, I., Gonzalo-Garjón, A., 2017a. Distribution of ornamental urban trees and their influence on airborne pollen in the SW of Iberian Peninsula. *Landsc. Urban Plan.* 157, 434–446.
- Maya-Manzano, J.M., Sady, M., Tormo-Molina, R., Fernández-Rodríguez, S., Otero, J., Silva-Palacios, I., Garjón, A., 2017b. Relationships between airborne pollen grains, wind direction and land cover using GIS and circular statistics. *Sci. Total Environ.* 584–585, 603–611.
- Meier, U., 1997. BRCH-Monograph. Growth Stages of Plants. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, Vienna, pp. 622 ISBN 3-8263-3132-4.
- Meier, U., 2001. Growth Stages of Mono and Dicotyledonous Plants. BRCH Monograph, 2nd ed. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. <http://pub.jki.bund.de/index.php/BBCH/article/view/461>.
- Mohammad, S.M., Pooryousef, M., 2011. A study on traditional usage of olives. *J. Appl. Sci. Res.* 7, 1186–1187.
- Monroy-Colín, A., Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J.M., Fernández-Rodríguez, S., 2018. Environmental analysis of airborne pollen occurrence, pollen source distribution and phenology of Fraxinus angustifolia. *Aerobiologia* 34 (4), 269–283.
- Moreno-Grau, S., Aira, M.J., Elvira-Renabades, B., Fernández-González, M., Fernández-González, D., García-Sánchez, A., Martínez-García, M.J., Moreno, J.M., Negral, I., Vana, A., Rodríguez-Rajo, F., 2016. Assessment of the Olea pollen and its major allergen Ole e 1 concentrations in the bioaerosol of two biogeographical areas. *Atmos. Environ.* 145, 264–271.
- Nilsson, S., Persson, S., 1981. Tree Pollen Spectra in the Stockholm Region (Sweden). 1973–1980.
- NSI, 2018. Population by Cities. National Institute of Statistics, Madrid, Spain.
- Orlandi, F., Romano, B., Fornaciari, M., 2005. Effective pollination period estimation in olive (Olea europaea L.): a pollen monitoring application. *Sci. Hortic.* 105, 313–318.
- Peccore-Castimiro, R., Fernández-Rodríguez, S., Tormo-Molina, R., Monroy-Colín, A., Silva-Palacios, I., Coriés-Pérez, J.F., Gonzalo-Garjón, A., Maya-Manzano, J.M., 2019. Urban aerobiological risk mapping of ornamental trees using a new index based on LIDAR and Kriging: a case study of plane trees. *Sci. Total Environ.* 693.
- R Core Team, 2018. R: a Language and Environment for Statistical Computing. Retrieved from: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rallo, L., Cuevas, J., 2001. Fructificación y producción. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, S. (Eds.), Cultivo Del Olivo. Mundi Prens, pp. 118–152.
- Rodríguez-De la Cruz, D., Sánchez-Reyes, E., Dávila-González, I., Lorente-Toledano, F., Sánchez-Sánchez, J., 2010. Airborne pollen calendar of Salamanca, Spain 2000–2007. *Allergol. Immunopathol.* 38 (6), 307–312.
- Rojas, J., 2014. Estudio De La Fenología Floral Del Olivo (Olea Europaea L.) Y Su Relación Con Las Variables Ambientales. Tesis Doctoral. Universidad Castilla-La Mancha, España.
- Rojas, J., Pérez-Badía, 2015a. Models for forecasting the flowering of Cornicabra olive groves. *Int. J. Biometeorol.* 59 (11), 1547–1556. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-0961-6>. Epub 2015 Feb 6.
- Rojas, J., Pérez-Badía, 2015b. Spatiotemporal analysis of olive flowering using geostatistical techniques. *Sci. Total Environ.* 505, 860–869.
- Rojas, J., Salido, P., Pérez-Badía, R., 2015c. Flower and pollen production in the “Cornicabra” olive (Olea europaea L.) cultivar and the influence of environmental factors. *Trees* 29, 1235–1245.
- Rojas, J., Orlandi, F., Pérez-Badía, R., Aguilera, F., Ben Dhiab, A., Bouziat, H., Díaz de la Guardia, C., Galán, C., Gutiérrez-Bustillo, A.M., Moreno-Grau, S., Moulem, M., Trigo, M.M., Fornaciari, 2016. Modeling olive pollen intensity in the Mediterranean region through analysis of emission sources. *Sci. Total Environ.* 551–552, 73–82.
- Rojas, J., Picornell, A., Otero, J., 2019. Aerobiology: the computational tool for biological data in the air. *Methods Ecol. Evol.* 10 (8), 1371–1376.
- Rolph, G., 2014. Real-time Environmental Applications and Display System (READY) Website. NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD. <http://ready.arl.noaa.gov>.
- Rosati, A., Caporali, S., Paoletti, A., 2012. Floral biology: implications for fruit characteristics and yield. In: Muzzalupo, L. (Ed.), Olive Germplasm, Theo Lie Cultivation. Table Olive and Olive Oil Industry in Italy, pp. 71–80.
- Sady, M., Skjøth, C., Kennedy, R., 2014. Determination of Alternaria spp. Habitats using 7-day volumetric spore trap, hybrid single particle Lagrangian integrated trajectory model and geographic information system. *Urban Clim.* <https://doi.org/10.1016/j.uclim.2014.1008.1005>.
- Salamanca, G., Rodríguez, R., Quirante, J., Moreno, C., Pascual, C., Barber, D., Villalba, M., 2010. Pectin methylesterases of pollen tissue, a major allergen in olive tree. *FEBS J.* 277 (13), 2729–2739.

- Sefc, K.M., Lopes, M.S., Mendonça, D., Rodrigues Dos Santos, M., Laimier Da Camara Machado, M., Da Camara Machado, A., 2001. Identification of microsatellite loci in olive (*Olea europaea*) and their characterization in Italian and Iberian olive trees. *Mol. Ecol.* 9, 1171–1193.
- SEIAC, Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, 2005. Factores Epidemiológicos Clínicos Y Socioeconómicos De Las Enfermedades Alérgicas En España En 2005. EGRAIF, Madrid, España.
- Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., Muñoz-Rodríguez, A., 2000. Influence of wind direction on pollen concentration in the atmosphere. *Int. J. Biometeorol.* 44, 128–133.
- Skjoth, C.A., Sommer, J., Stach, A., Smith, M., Brandt, J., 2007. The long range transport of birch (*Betula*) pollen from Poland and Germany causes significant pre-season concentrations in Denmark. *Clin. Exp. Allergy* 37, 1204–1212.
- Skjoth, C., Sommer, J., Frederiksen, L., Gosewinkel, U., 2012. Crop harvest in Denmark and Central Europe contributes to the local load of airborne *Alternaria* spore concentrations in Copenhagen. *Atmos. Chem. Phys.* 12, 11107–11123.
- Skjoth, C.A., arby, P.V., Becker, T., Geels, C., Schlünsen, V., Sigsgaard, T., 2013. Identifying urban sources as cause of elevated grass pollen concentrations using GIS and remote sensing. *Biogeosciences* 10, 541–554.
- Skjoth, C.A., Baker, P., Sadyr, M., Adams-Groom, B., 2014. Pollen from alder (*Alnus* sp.), birch (*Betula* sp.) and oak (*Quercus* sp.) in the UK originate from small woodlands. *Urban Clim.*
- Staffolani, L., Velasco-Jiménez, M.J., Galán, C., Hruska, K., 2011. Allergenicity of the ornamental urban flora: ecological and aerobiological analyses in Córdoba (Spain) and Ascoli Piceno (Italy). *Aerobiologia* 27, 239–246.
- Tedeschini, E., Rodríguez-Rajo, F.J., Cammiella, R., Jato, V., Frangulli, G., 2006. The influence of climate changes in *Platanus* spp. Pollination in Spain and Italy. *Grass* 45, 222–229.
- Tormo, R., Silva, I., Gonzalo, A., Moreno, A., Pérez, R., Fernández, S., 2011. Phenological records as a complement to aerobiological data. *Int. J. Biometeorol.* 55, 51–65.
- Trigo, M.M., Jato, V., Fernández, D., Galán, C., 2008. Atlas Aeropolinológico De España. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de León, León.
- Vain, A., Fernández-González, M., Alra, M.J., Rodríguez-Rajo, F.J., 2016. Oleaceae cross-reactions as potential pollinosis cause in urban areas. *Sci. Total Environ.* 552, 435–440.
- Vargas, P., Talavera, S., 2012. *Olea*. Flora Europaea Vol. 11. CSIC Real Jardín Botánico, pp. 136–139.
- Velasco-Jiménez, M.J., Alcázar, P., Valle, A., Trigo, M.M., Mittero, F., Domínguez-Vilches, F., Galán, C., 2014. Aerobiological and ecological study of the potentially allergenic ornamental plants in south Spain. *Aerobiologia* 30, 91–101.
- Yates, I.E., Sparks, D., 1993. Environmental regulation of anther dehiscence and pollen germination in poplar. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 118, 699–706.
- Zerbini, R., Manfredi, M., 1968. Utilization of aerobiological, phenological and phytogeographical data in allergology. *Aerobiologia* 4 (27).
- Zhu, W., Zhou, P., Xie, J., Zhao, G., Wei, Z., 2013. Advances in the pollination biology of olive (*Olea europaea* L.). *Acta Ecol. Sin.* 33 (2013), 64–71.

7. Discusión

Esta Tesis Doctoral tiene como objetivo principal la realización del análisis y la comparación en el comportamiento fenológico de distintas especies en el suroeste de la Península Ibérica, específicamente de *Fraxinus angustifolia*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus macrocarpa*, *Cupressus sempervirens*, *Platycladus orientalis* y *Olea europaea*. Se ha cotejado esta información fenológica con las concentraciones aerovagantes de dichos tipos polínicos obtenidas mediante un muestreo aerobiológico continuo de la atmósfera de la ciudad de Badajoz con un captador volumétrico fijo. Se pretendían estudiar además las relaciones existentes entre las concentraciones de polen en el aire de polen para estos tipos polínicos con los parámetros meteorológicos y su ubicación dentro de la ciudad. Estas especies han sido utilizadas durante décadas como especies ornamentales y en el caso de *Olea europaea* ha sido cultivada en la región debido a su gran interés económico (SEAIC, 2005; Rojo *et al.*, 2016).

Es importante partir de la base que los estudios fenológicos de especies botánicas con interés alergénico permiten alertar a la población con problemas alergénicos sobre el incremento del polen en el aire (Zernoni, 1998). En condiciones normales, sería esperable que los picos de concentración de polen en el aire coincidieran con los máximos en los estados fenológicos (Tormo-Molina *et al.*, 2011). Sin embargo, como se ha podido comprobar en este estudio (Monroy-Colín *et al.* 2020a), no siempre ocurre de esta manera, mostrando también desplazamientos espaciotemporales que provocan adelantos o atrasos entre ambos conjuntos de datos de fenología y Aerobiología.

Uno de los factores que explican la presencia de polen dentro del aire de la ciudad y zonas cercanas es la presencia y abundancia de las especies vegetales a nivel local (Staffolani *et al.*, 2011; Maya-Manzano *et al.*, 2017a). Las áreas verdes urbanas mejoran las condiciones del aire, del agua y del suelo; reteniendo contaminantes del aire cuando las partículas de polvo y contaminación quedan atrapadas en la vegetación (Ochoa de la Torre, 1999; Whittinghill *et al.* 2014). De esta manera, aumenta la producción de oxígeno y se incrementan las áreas de captación y almacenamiento de agua, estabilizándose los suelos y actuando como amortiguadores de la temperatura y

proporcionando hábitat para la fauna silvestre y reduciendo la contaminación auditiva (Ochoa de la Torre, 1999; Fang & Ling, 2005), así como los niveles de CO₂ (Sorensen *et. al.* 1997; Salmond *et. al.* 2016). Además de esto, las áreas verdes urbanas ayudan a mitigar los efectos de islas de calor y facilitan espacios recreativos y culturales para la población (Ochoa de la Torre, 1999; Elmqvist *et. al.* 2008). Estos beneficios son de especial importancia siendo a nivel global, significativos e influyendo en general en la contribución que los árboles y plantas prestan a la salud mental y física de la población (Ochoa de la Torre, 1999; Salmond *et. al.* 2016).

Sin embargo, algunos de los efectos de la vegetación en el ambiente urbano se pueden ver contrarrestados por problemas económicos asociados a los altos costos que conlleva la limpieza de los residuos generados por las plantas ornamentales tanto de hojas secas como de frutas (Elmqvist *et. al.* 2008; Schowalter, 2016; Endsley, 2018). Además de los gastos generados por la reparación de aceras, edificios, mobiliario urbano e instalaciones subterráneas producidos por raíces y ramas (Ochoa de la Torre, 1999; Elmqvist *et. al.* 2008). Por otra parte, se puede alterar la vegetación y la flora introducida pudiendo desplazar a la autóctona (Ochoa de la Torre, 1999; Elmqvist *et. al.* 2008) mediante la generación de plagas y la presencia de enfermedades en las plantas (Schowalter, 2016). Por último, potenciar los problemas de salud en la población al exponerse al polen alergénico, provocando síntomas como la rinitis alérgica, eccemas y otros problemas dérmicos y la exacerbación del asma en individuos susceptibles durante la época de floración (D'Amato *et. al.* 2007; Cariñanos & Casares, 2011; Staffolani *et al.*, 2011; Maya-Manzano *et al.*, 2017a).

La polinosis afecta entre un 10% y un 30% de la población mundial (Ziska *et. al.* 2019), cifra que va en aumento durante las últimas décadas en la mayoría de los países europeos, donde el polen es el responsable del 40% de las rinoconjuntivitis y del 27% de los casos de asma (Valero & Picado, 2002; Salmond *et. al.* 2016). Se estima que la población de zonas urbanas tiene un 20% más de probabilidad de sufrir alergias al polen (Ogren, 2002; D'Amato *et. al.* 2007; Cariñanos & Casares-Porcel, 2011). Este problema de salud pública se podría evitar haciendo una mejor selección de especies vegetales para ser plantadas dentro de las ciudades o aumentando los estudios fenológicos para conocer el periodo exacto de mayor incidencia de polen en el aire. Actualmente las únicas medidas o recomendaciones que hace el gobierno nacional a

través del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, se basan principalmente en mantenerse durante el pico de polinización el mayor tiempo posible en el interior de las casas (MSCBS, 2020). Estas medidas son difíciles de cumplir, dada las diversas actividades que desarrollan las personas a diario. Por ello, en un gran número de casos, es necesaria la utilización de medicación para controlar los síntomas y/o inmunoterapia para mejorar la calidad de vida de estos pacientes (MSCBS, 2020). Además, muchos pacientes pueden presentar alergias a más de un alérgeno o presentar reactividad cruzada (Trigo *et al.*, 2008), agudizando el problema. Así mismo, algunos granos de polen son más alergénicos que otros (D'Amato *et al.*, 2007) y esto también varía entre zonas geográficas (Burbach *et al.*, 2009). La mayor parte del polen alergénico en Europa es producido por *Betula* en los países del norte y en las regiones mediterráneas por *Olea europaea* que se encuentra principalmente asociado a la agricultura. Además, Cupressaceae representa el 30% del recuento total de polen durante el invierno y es responsable de la rinitis alérgica en un momento en que no florecen otras plantas alergénicas (D'Amato *et al.* 2007; Salmond *et al.* 2016).

La temporada de polen y su intensidad afectan a la calidad de vida de las personas alérgicas, que constituyen una parte considerable de la población humana, principalmente en los países con grandes superficies urbanas (Gonzalo-Garijo *et al.* 2006; D'Amato *et al.* 2007; Staffolani *et al.*, 2011; Maya-Manzano *et al.* 2017a; Cariñanos & Casares-Porcel, 2011).

La tendencia observada en el aumento de la intensidad y la producción de polen en muchas especies se puede atribuir a factores climáticos como el incremento de la temperatura derivada del calentamiento global de la tierra (Ziska *et al.* 2019). El análisis de la concentración polínica del cambio de usos del suelo y los estudios fenológicos permiten interpretar el riesgo potencial de los espacios verdes urbanos a lo largo del tiempo. Además, identificar las zonas donde se encuentran las fuentes emisoras sirve para plantear recomendaciones específicas y obtener un diseño de los nuevos espacios verdes más eficiente y menos perjudicial para la población (Pecero-Casimiro *et al.* 2019; Lara, 2020).

Recientemente se ha puesto de manifiesto que, junto a los estudios fenológicos, resulta muy útil la geolocalización de ejemplares para analizar las fuentes de origen del polen ya que cada vez es más común utilizar especies alergénicas como especies

ornamentales dentro de las ciudades (Staffolani *et al.*, 2011; Galán *et al.* 2016; Maya-Manzano *et al.* 2017b; Charalampopoulos *et al.*, 2018). De esta manera, otro uso potencial sería la recomendación de realizar itinerarios saludables para pacientes alérgicos mediante la elaboración de mapas de riesgo, considerando la mayor cantidad de factores biológicos y geográficos que puedan influir en la dinámica de distribución del polen en el aire (Pecero-Casimiro *et al.* 2019; Pecero-Casimiro *et al.* 2020).

Es importante el poder predecir y anticipar los episodios de polen en la atmósfera (Silva-Palacios *et al.* 2016b; Fernández-Rodríguez *et al.* 2016; Kubik-Komar *et al.* 2018) dado que la duración y la intensidad de la temporada de polen varían anualmente. Esta no es una tarea fácil ya que existen muchos factores que determinan el inicio de la floración de una especie, algunos de estos factores son la temperatura, la humedad relativa, el fotoperiodo y el estrés hídrico (Dahl *et al.* 2013). Cualquier cambio en estos factores afecta la fenología del árbol y por lo tanto el momento del inicio de la liberación de polen. Por ello, tener en cuenta los parámetros meteorológicos en la aparición y comportamiento de polen en la atmósfera es esencial.

Se sabe que el ciclo biológico de las plantas cambia con el genotipo y con los factores del clima, esto quiere decir que las plantas del mismo genotipo plantadas bajo diferentes condiciones climáticas pueden presentar diferentes estados de desarrollo después de transcurrido el mismo tiempo cronológico (Fernández, 2011). En los tres capítulos de esta Tesis Doctoral se muestra la importancia que tiene la dirección del viento a la hora de analizar la presencia del polen en el aire, al igual que la temperatura y la precipitación que también tienen un papel muy importante. Los cambios en el clima pueden tener diferentes efectos sobre los ecosistemas y las especies. De acuerdo con Cook *et al.* (2012) se está observando un avance fenológico generalizado en diferentes especies vegetales de las regiones de latitudes templadas, algo que también comprobó Donnelly *et al.*, en Irlanda (2004). En la región mediterránea, la temperatura y la precipitación son los factores clave para la fenología de la mayoría de las especies (Gordo & Sanz, 2010; Orlandi *et al.*, 2020). Todo esto puede dar lugar, de acuerdo con las previsiones climáticas (IPCC 2013), a futuros cambios de nichos ecológicos de las especies, hecho ya estudiado en el contexto europeo (Hanewinkel *et al.*, 2013) o cambios en la producción de frutos de especies con interés económico como el olivo (Orlandi, *et al.* 2020).

En cuanto a la precipitación durante el periodo de polinización, siempre va a presentar una correlación negativa, pues produce un efecto de lavado de la atmósfera (Hall, 1992). Frenguelli *et. al.* (1989) indican que, de forma general, la correlación con la temperatura es generalmente positiva, debido a que se produce un secado en las anteras que favorece la dehiscencia y, por lo tanto, la liberación del polen a la atmósfera. Cabe mencionar que el secado y la dehiscencia se producirán si la humedad relativa es baja; existiendo diferencias considerables entre especies en cuanto a si se liberará todo el polen de manera simultáneamente o si la antera se abrirá y cerrará nuevamente de acuerdo con las variaciones en humedad, por ejemplo, en un día de lluvia (Dahl *et. al.* 2013). En la mayoría de las especies, el grano de polen está parcialmente deshidratado justo antes o en el momento de la apertura de la antera, un proceso que contribuye a su longevidad.

La fenología aplicada al estudio de las fechas en las que ocurre la floración de diversas especies es de gran utilidad en estudios aerobiológicos (Tormo *et al.*, 2011) para comprobar sobre el terreno que el polen recogido realmente procede de fuentes locales y descartar fenómenos de transporte a larga distancia (Monroy-Colín *et. al.* 2020a; Fernández-Rodríguez *et. al.* 2020). En los últimos años, estos datos se han estado aplicando en estudios de cambio climático, ya que la presencia del polen en el aire es un bioparámetro ambiental que refleja los cambios graduales que sufren los organismos (Donnelly *et al.*, 2004), delimitando las tendencias fenológicas regionales. En algunos casos, como *Olea*, los estudios fenológicos pueden ser de utilidad para la obtención de modelos predictivos para la cosecha, siendo de gran interés para su aplicación en la agronomía (Saénz *et. al.* 2003; Galán *et al.*, 2001a).

Recientemente han aumentado los estudios donde se utilizan nuevas tecnologías como los Sistemas de información Geográfica (SIG) o la teledetección dando como resultado la creación de mapas de riesgo o modelos predictivos. Estas tecnologías no pueden medir directamente muchas variables de la superficie terrestre (Bai *et. al.* 2013; Singh *et. al.* 2018) como la evapotranspiración, el flujo de carbono o el inicio de la liberación de granos de polen a la atmósfera. Solo pueden estimarse utilizando modelos y, por lo tanto, conduce a un uso incompleto de los datos (Singh *et. al.* 2018). Además, la similitud espectral de la vegetación urbana puede provocar errores de clasificación. Por ejemplo, el abedul (*Betula* sp.) y el arce (*Acer rubrum*) son árboles

caducifolios y espectralmente similares (Singh *et. al.* 2018), pero genéticamente, son dos tipos de árboles completamente diferentes. Por lo tanto, si bien el mapeo de árboles caducifolios es posible utilizando imágenes de alta resolución, la detección de especies individuales sigue siendo un desafío y una tarea relevante por mejorar.

Es por estas razones que el estudio de la fenología viene a ser una importante herramienta complementaria y muy útil de estas nuevas tecnologías. Los trabajos realizados por Rojo & Pérez-Badía (2015a) con los datos fenológicos de cinco años, crearon modelos para predecir los inicios de floración de *Olea europaea*. Otro ejemplo es el trabajo de estos mismos autores (Rojo & Pérez-Badía, 2015b), que realizaron un análisis espaciotemporal del patrón de floración de *Olea europaea*, obteniendo mapas fenológicos que determinaron el patrón de sucesión de la floración de *Olea europaea*.

Para la presente Tesis Doctoral se han tomado como referencia estudios fenológicos de la provincia de Badajoz con otras especies de géneros como *Platanus*, *Quercus*, *Plantago*, *Olea* y familias como Cupressaceae y Poaceae (Tormo-Molina *et. al.* 2011; Tormo-Molina *et. al.* 2015; Fernández-Illescas *et. al.* 2010). Hay que indicar que en ninguno de estos estudios se había estudiado la relación ambiental multifactorial entre la concentración de polen atmosférico, la fuente de origen, los parámetros meteorológicos y la fenología. En el contexto europeo hay relacionados tres estudios fenológicos de referencia con el presente trabajo (Rojo *et. al.* 2016; Menzel *et. al.* 2006; Saénz *et. al.* 2003).

Los resultados de las observaciones fenológicas de las especies estudiadas en esta Tesis Doctoral indican una clara estacionalidad, mientras que *Fraxinus angustifolia* y Cupressaceae florecen en invierno, *Olea europaea* lo hace durante la primavera. De forma general, se puede afirmar que el periodo de floración de los tres tipos polínicos es de un mes aproximadamente (**Tabla 3**), siendo un poco más largo en la familia Cupressaceae. Probablemente, puede ser debido a que se han estudiado más de cuatro especies y no sólo una como en los otros dos casos.

De las especies con floración invernal, *Fraxinus angustifolia* (Capítulo I) es la primera en aparecer, iniciando su floración la primera semana de diciembre y finalizando la última semana de enero. En comparación con Cupressaceae (Capítulo II) que florece entre primeros de enero y finales del mes de marzo (**Tabla 3**). Para estas especies, el pico máximo de floración se presenta un mes después de su inicio, caso

contrario a *Olea europaea* (Capítulo III) que presenta un periodo de floración más breve e intenso, alcanzando los máximos de floración tan solo una semana después de iniciado el periodo de floración (**Tabla 3**). Esto es debido a las altas temperaturas que aceleran la maduración y acortan la duración de la antesis. De esta manera, *Olea europaea* libera una mayor cantidad de granos de polen en un breve periodo, en promedio se ha encontrado una concentración diaria máxima de hasta 1200 granos de polen/m³ durante la segunda semana de mayo (**Tabla 3**), cifra muy por encima de los máximos que presentan Cupressaceae (354 granos de polen/m³) o *Fraxinus angustifolia* (65 granos de polen/m³).

Esta diferencia tan significativa se puede explicar por múltiples razones:

a) La capacidad de producción de polen de los distintos organismos (Tormo *et al.* 1996a).

b) La proximidad y abundancia de las fuentes de emisión (Maya-Manzano *et al.*, 2017a). Por ejemplo, en este caso, solamente se contabilizaron 337 ejemplares de *Fraxinus angustifolia* dentro de la ciudad, mientras que se contabilizaron 2217 ejemplares de *Olea europaea* y 1275 de Cupressaceae (**Tabla 3**).

c) La situación del captador dentro de la ciudad con respecto a las fuentes polínicas y la dirección predominante del viento (Maya-Manzano *et al.*, 2017b; Monroy-Colín *et al.* 2018). En Badajoz la mayoría de los ejemplares de *Fraxinus angustifolia* se encontraban en el este de la ciudad y del captador (**Fig. 12**), mientras que hay estudios en el área muestreada que detallan que la dirección predominante del viento en la zona es de componente oeste (Silva-Palacios *et al.*, 2000). Esto provoca que los vientos procedentes de esa dirección no recojan tanto polen como cabría esperar de acuerdo con las fechas de polinización al no “barrer” esas fuentes.

d) La influencia del transporte a media-larga distancia, como ya se ha analizado en el capítulo III (Monroy-Colín *et al.* 2020a).

f) La influencia del descanso de producción interanual de algunas especies conocido como *masting* en inglés o en español *vecería* (Latalowa *et al.* 2002; Galera *et al.*, 2018), el cuál será más notado aún en especies con baja producción polínica, como *Fraxinus* (Tapper 1996).

g) La influencia de los parámetros meteorológicos, cuando la temperatura es muy baja como sucede en el invierno, la liberación de polen se ve obstaculizada debido

a que la humedad relativa es alta, produciendo una agregación de los granos de polen, aumentando el peso y favoreciendo la deposición de estos (Galán *et al.*, 1989; Norris-Hill & Emberlin, 1991; Aira *et al.*, 2001). A altas temperaturas, como las alcanzadas en el mes de mayo se produce un secado en las anteras que favorece la dehiscencia y, por lo tanto, la liberación del polen a la atmósfera (Frenguelli *et al.* 1989).

En este mismo sentido, los valores horarios con mayor y menor concentración de polen en la atmósfera (**Tabla 3**) de los tres tipos polínicos analizados coincide con lo reportado por Ščevková *et al.* (2015) quienes señalan que la liberación del polen tiende a alcanzar su punto máximo por la tarde, observándose los niveles más bajos durante toda la noche o primeras horas de la mañana, encontrándose variaciones entre especies. Sin embargo, Latalowa *et al.* (2005) señalan que esto no siempre es así en la vegetación urbana, señalando que el entorno urbano, particularmente la modificación de la luz, el agua o la temperatura en las calles, podría afectar tanto el momento de inicio de la liberación de polen como el patrón diurno del mismo. La liberación de polen puede ser sincrónica o escalonada dentro de las flores, inflorescencias o incluso en la misma planta, dependiendo de la forma de vida, adaptaciones o factores meteorológicos ambientales (Augspurger & Bartlett, 2003).

En cuanto a la estación polínica, en general, suele haber coincidencia con la floración de plantas anemófilas. Dicha coincidencia fue encontrada en *Fraxinus angustifolia* como Cupressaceae, sin embargo, el comportamiento del polen en la atmósfera está condicionado por factores meteorológicos como la velocidad o dirección del viento (Capítulo II), la temperatura (Capítulo I y III) y por la ubicación del captador de polen (Capítulo II). Cuando no suele existir una coincidencia, tal y como ocurre en *Olea europaea* (Capítulo III) donde aparece polen en la atmósfera días antes de iniciar la floración en la vegetación local, queda en evidencia la influencia del transporte a larga distancia (Capítulo III).

Capítulo I: *Environmental analysis of airborne pollen occurrence, pollen source distribution and phenology of *Fraxinus angustifolia**

Durante las últimas décadas se ha considerado el polen del género *Fraxinus* como un alérgeno relevante en algunos países centroeuropeos (Gastaminza *et. al.* 2005). Diversos estudios realizados en el norte de Europa, Suiza, Francia y sur de Austria identifican al polen de *Fraxinus* como el causante de buena parte de las alergias en la población (Schmid-Grendelmeier *et. al.* 1994; Hemmer *et. al.* 2000; Heinzerling *et. al.* 2009; Poncet *et. al.* 2010; Smith *et. al.* 2014). Esta situación tiene mayor importancia en las zonas donde existen ejemplares de *Betula*, ya que ambos géneros coinciden en su periodo de floración y se ha comprobado que, al coincidir el polen de ambas especies, existe un aumento de las reacciones alérgicas en personas sensibles (Niederberger *et. al.* 2002; Kubik-Komar *et. al.* 2018). Este efecto de reactividad cruzada de *Fraxinus* también se da en España con el olivo, consecuencia del alto grado de homología (88% de similitud) que su proteína alérgica principal (Fra e 1) posee con respecto a la proteína alérgica principal del polen de *Olea* (Ole e 1). Entre el 70% u 80% de los pacientes sensibilizados al polen de *Fraxinus* presentan en sus sueros anticuerpos Fra e 1 e IgE (Fernández-González *et. al.* 2016).

La producción de polen no es constante a lo largo del tiempo, sino que pueden producirse variaciones interanuales en las fechas en las que se registran los picos de polen para una misma región. En el sur de Europa existen pocos estudios sobre la incidencia alérgica del polen de *Fraxinus* debido a su escasa representatividad. De *Fraxinus angustifolia* existen pocos estudios fenológicos previos, a pesar de encontrarse dentro de las especies que generan gran interés debido al potencial alérgico durante el invierno. Entre los existentes, cabe mencionar el trabajo de Hidalgo-Galvez *et al.*, (2017) y a los registros de un año de estudio en Ourense, una región al norte de España donde de forma secundaria se analiza la cronología de la floración del género *Fraxinus* (Fernández-González *et. al.* 2016).

La temperatura es un factor fundamental para iniciar la floración en el género *Fraxinus* (Peeters 2000; Jato *et. al.* 2004), pero la mayoría de los estudios de este género se centran en *Fraxinus excelsior*. En los resultados del estudio de esta Tesis Doctoral, los mayores niveles de polen se alcanzaron cuando la temperatura media diaria era de 9 °C. Además, se observó una coincidencia en el periodo de polinización

principal con rangos de temperatura promedio entre 6° y 11° C (diciembre-enero), similar a lo reportado por Calderón-Ezquerro *et. al.* (2016), que señalan la presencia de polen de *Fraxinus* cuando las temperaturas oscilan entre los 6,9° y 10,9°. El inicio de la temporada de polen se ha relacionado con los períodos de heladas.

Para *Fraxinus excelsior* (Peeters, 1998) la temporada se inicia cuando la temperatura mínima es menor o igual a -2 °C. Jato *et. al.* (2004) en un estudio al noroeste de la Península Ibérica señalando que el frío acumulado en noviembre determinó los requisitos de calor, marcando el inicio de la temporada de polen. Además, los picos máximos de polen fueron encontrados a finales de enero y principios de febrero. Sin embargo, estos resultados no coinciden con los encontrados en el estudio realizado en esta Tesis Doctoral que ha registrado para *Fraxinus angustifolia* el inicio de floración entre finales de noviembre y principios de diciembre, en condiciones en las que no se habían alcanzado las temperaturas más bajas. Los resultados encontrados están en consonancia con lo observado por Bicakci *et. al.* (2017), quienes señalan que para *Fraxinus angustifolia* es más importante la fotoperiodicidad que la temperatura, ya que de hecho allí se indica que las plantas detectan el acortamiento de los días en invierno, favoreciendo el florecimiento.

En los resultados encontrados en el presente trabajo se encuentran relaciones estadísticamente significativas con la temperatura y humedad, dependiendo si se consideran datos diarios u horarios. Los datos diarios mostraron una correlación estadísticamente significativa de signo negativo con la temperatura y una correlación estadísticamente significativa de signo positivo con la humedad relativa. Mientras que la floración se inicia cuando las temperaturas disminuyen, el polen aumenta en la atmósfera cerca del mediodía, cuando las temperaturas superan los 12 °C. Datos similares a los encontrados por Ščevková *et. al.* (2015) en Eslovaquia, quienes reportan un máximo a las 12:00 y un segundo máximo a las 18:00. Calderón-Ezquerro *et. al.* (2016) en México reportaron una mayor concentración de polen a las 13:00, mientras que en este estudio se encontraron los valores máximos dentro de la franja horaria de las 14:00 a las 16:00.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el periodo principal de polinización de 2015-2016 y 2016-2017. Estos hallazgos están en consonancia con Kasprzyk *et. al.* (2004), cuyos resultados no encontraron diferencias

latitudinales en la temporada principal de polen en Polonia. Aunque según el estudio de Ziello *et. al.* (2012) con 23 tipos polínicos y con datos del género *Fraxinus* durante 10-20 años, parece haber una tendencia creciente en la cantidad anual de polen en el aire para muchos taxones en Europa. Esto podría explicarse por el hecho de que los árboles de *Fraxinus angustifolia* son más independientes del estrés hídrico, ya que siempre crecen en ambientes húmedos como las orillas de los ríos y zonas urbanas mediterráneas dependientes del mantenimiento de riego. En este mismo sentido, en los últimos dos periodos estudiados (2015-2016 y 2016-2017) no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los datos obtenidos de ejemplares ornamentales dentro de la ciudad y los ejemplares de ribera a la orilla del río Guadiana. Esto puede ser debido a que en ninguno de los dos casos hubo estrés hídrico para las plantas ya que las fuentes ornamentales fueron regadas constantemente incluso en la época de mayor temperatura como es el verano en la zona estudiada.

Al analizar los parámetros meteorológicos y la distribución de los ejemplares dentro de la ciudad, se encontró una relación directa con la localización de los árboles y la dirección del viento. Prácticamente todos los granos de polen de *Fraxinus* se registraron cuando el viento soplaba desde el SE, mientras que la mayoría de los ejemplares de *Fraxinus angustifolia* se localizaban al E y NE del captador. Estos resultados apoyan la relevancia de la influencia de la cercanía de los ejemplares a los captadores volumétricos (Silva-Palacios *et al.* 2007; Fernández-Rodríguez *et al.* 2014), poniendo de manifiesto la importancia de la geolocalización de los ejemplares como una herramienta para complementar este tipo de estudios.

Después de analizar el periodo de polinización durante 24 años (1993 a 2016, sin datos para la temporada de 1995-1996 y 2001-2002) se encuentra que la temporada de floración de *Fraxinus angustifolia* en Badajoz se inicia generalmente desde finales de noviembre (28/11) hasta principios de febrero (11/02). Esto representa un adelanto de más de un mes con respecto a los escasos registros de floración en otras ciudades como Ourense (Fernández-González *et. al.* 2016), al noroeste de España, donde se ha observado que la floración de *Fraxinus angustifolia* se inicia a mediados del mes de enero. Además, al comparar el inicio de la fecha de polinización de los 24 periodos analizados para Badajoz se puede comprobar que existe un retraso en el inicio de la polinización de *Fraxinus angustifolia* (Monroy-Colín *et. al.* 2018; Capítulo I). Por

ejemplo, para los periodos 1993-1994 y 1994-1995, el periodo principal de polinización inició el 22 de noviembre, mientras que en el periodo 2015-2016 dio inicio el 11 de diciembre y para 2016-2017 el 17 de diciembre, lo que supone un retraso de más de tres semanas. Esto podría deberse al aumento de la temperatura global y los efectos que provoca.

Los factores meteorológicos suelen afectar a las plantas en su regulación de los procesos como la inducción, la iniciación o la diferenciación del desarrollo de fenofases vegetativas y reproductivas. La temperatura es el principal factor de influencia, existiendo estudios sobre tendencias fenológicas que han revelado que el calentamiento climático detectado durante las últimas décadas está provocando un impacto en el tiempo de algunos eventos fenológicos de los árboles (Menzel *et al.* 2006; Cleland *et al.* 2007; García-Mozo *et al.* 2010). Además, según informaciones ofrecidas por *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) la temperatura media global en la superficie de la Tierra ha sufrido un incremento de 0,6 °C entre 1959 y 2010 (IPCC, 2013) y de 0,87 °C entre 2006 y 2015 (IPCC, 2019) y de 1,1 °C solamente para Europa. En el estudio de Hidalgo-Gálvez *et al.* (2017) que consideraron datos de 27 años (1986-2012) y 17 ciudades españolas, ponen en evidencia una modificación en los periodos de floración de algunas especies, entre ellas *Fraxinus angustifolia*. Ellos informaron que el 61% de los sitios analizados presentaron un adelanto en el periodo de polinización en primavera y un 63% de los sitios analizados presentaron un retraso en las especies que polinizan durante el otoño o invierno, cuando las temperaturas deben ser más bajas. De esta manera, Hidalgo-Gálvez *et al.*, (2017) registraron que existen alteraciones en los ciclos de vida de las especies estudiadas en la mayoría de los sitios de muestreo, estando asociadas a los cambios en los registros de temperatura y precipitación. Particularmente, en el 55% de las localidades estudiadas se detectaron los avances en respuesta al aumento de temperatura y en el 52% de los casos se detectaron variaciones de precipitación. En general, ellos mencionan que el desarrollo de las hojas y la floración mostraron correlaciones negativas en relación con la temperatura y la precipitación, indicando que estas variables están causando modificaciones en el inicio y duración de la fenofases en diversas especies dentro de las que se incluye *Fraxinus angustifolia*.

Los cuatro periodos de polinización (2010-2011, 2016-2017, 2003-2004 y 2005-2006) con la duración más breve (inferior a los 50 días) tienen mayores concentraciones de polen en el aire, por encima de los 900 granos de polen/m³. Estos resultados coinciden con lo observado Fuentes *et. al.* (2020) en la ciudad de Salamanca donde las concentraciones promedio superan los 1000 granos de polen/m³; y por lo reportado por Díaz de la Guardía *et. al.* (2006), que indicaron que la precipitación previa al periodo de floración provocaba una prolongación de la polinización con concentraciones bajas debido a una lenta liberación de polen y que las temperaturas más cálidas durante el periodo de floración acortan el periodo de polinización con altas concentraciones.

Los picos de polen de *Fraxinus* encontrados en Badajoz no coincidieron con los picos máximos de liberación de polen en las flores de los ejemplares estudiados de *Fraxinus angustifolia*. En el primer período del estudio fenológico (2015-2016) esta diferencia pudo ser debido a los episodios de precipitación causando un efecto de lavado en la atmósfera y a la retención del polen en las anteras debido a la alta humedad relativa, mientras que en el segundo periodo (2016-2017) hubo un retraso de 10-15 días de la fenología con respecto a la aparición del polen en el aire. Aunque no puedan descartarse algún episodio de transporte a media-larga distancia como elemento explicativo en el caso de picos de concentraciones de polen de forma esporádica, su aportación mayoritaria quedó descartada, ya que en este caso el análisis de las fuentes de origen demostró que los ejemplares que más influyen en la captación de polen de *Fraxinus* son aquellos que se encuentran a menos de 500 m del captador volumétrico.

Se puede aducir que la metodología utilizada podría ser otro causante de las diferencias encontradas, ya que la observación natural en los niveles más bajos de la copa del árbol (altura promedio de 1,5 a 2 m) podría estar ocultando un mayor desarrollo fenológico a niveles altos (Monroy-Colín *et al.*, 2018) con la posibilidad de que la floración en estas ramas más expuestas pudiera iniciarse antes. Existen algunos estudios que señalan una diferencia entre la fenología de árboles de la misma especie y diferente edad (Augspurger & Bartletti, 2003) e incluso entre ramas del mismo árbol, especialmente en árboles caducifolios (Osada *et. al.*, 2005). Por lo que es de considerarse que este problema requiere de más estudio teniendo en cuenta estas variaciones y los efectos de la latitud y altitud (Damialis *et. al.*, 2011 y 2017).

Se propuso sin embargo un análisis de retrotrayectorias (Maya-Manzano *et. al.* 2016) para otro tipo polínico de la misma familia y que presentase una mayor densidad de ejemplares en el territorio del área de estudio y alrededores. Además de que haya mostrado ya una potencialidad para transporte a larga distancia (Fernández-Rodríguez *et al.*, 2014). Para ello se planteó en un estudio posterior (Capítulo III) analizar el tipo de *Olea europaea*, además de ser un tipo polínico de la misma familia y con composiciones químicas muy similares, siendo muy estudiado en la región mediterránea debido a su interés económico en la agricultura (Fernández-González *et. al.*, 2016; Rojo *et. al.*, 2016).

Capítulo II: *Phenology of Cupressaceae urban infrastructure related to their pollen content and meteorological variables.*

A lo largo de todo el año se puede encontrar en el aire el polen de Cupressaceae, concentrándose durante finales de un año y el comienzo del siguiente, pudiéndose encontrar hasta el 95% del polen anual total (Hidalgo *et. al.* 2003) y registrando el pico máximo a finales de febrero o principios de marzo. Durante los tres años de estudio (2016, 2017 y 2018), el pico máximo de polen presente en la atmósfera fue de 606 granos de polen/m³ (14/02/2017), estando estos datos por debajo de los máximos de las últimas décadas, según lo observado por Moral de Gregorio (2003) para diversas ciudades españolas y con lo observado en Badajoz por Silva-Palacios *et. al.* (2016b).

El promedio de la duración del periodo de polinización principal en Badajoz fue de 91 días, estando en consonancia con los estudios para otras ciudades de España como Santiago de Compostela, Madrid, Granada y Málaga, en cuanto a la familia Cupressaceae (Belmonte *et. al.* 1999; Tormo-Molina *et. al.* 2011; Silva-Palacios *et. al.* 2016b) y con lo registrado por Silva-Palacios *et. al.* (2016b) para la misma zona de estudio durante el periodo de 1993 a 2013. Este estudio señala que la temporada principal de polen va de 55 a 112 días con un promedio de 61 granos de polen/m³ con un promedio de pico máximo de 537 granos de polen/m³. Estos datos están por encima de lo encontrado en este estudio, con un promedio de pico máximo de 354 granos de polen/m³.

En cuanto al periodo de floración en 2017 se adelantó una semana (04/01) comparándolo con el resto de los años de estudio (2016 y 2018). La familia Cupressaceae libera el polen cuando las temperaturas son medias y evitan hacerlo cuando las temperaturas son bajas. La temperatura juega un papel muy importante en el proceso de la floración, existiendo estudios que demuestran que el periodo de floración es más corto en los años más fríos (Tedeschini, *et al.*, 2006). Por el contrario, en los años más calurosos, las yemas rompen antes, con el posterior adelanto de las flores y el periodo de floración se alarga liberando el polen gradualmente (Tedeschini, *et al.*, 2006; Cabrera & Subiza, 2008). Esto podría explicar el comportamiento del periodo de floración en 2017.

La cronología de floración de las especies de este estudio durante los tres años, coinciden con lo observado para el sur de la Península Ibérica, concretamente en Córdoba. Hidalgo *et. al.* (2003) indicaron que *Cupressus arizonica* florece dos semanas antes, mientras que *Cupressus macrocarpa* y *Cupressus sempervirens* florecen casi simultáneamente, siendo la primera la que se adelanta algunos días. Hidalgo *et. al.* (2003) indican que *Cupressus macrocarpa* es la principal fuente de polen de Cupressaceae durante el periodo de estudio, esto no coincide con lo encontrado en el presente estudio. *Cupressus sempervirens* en el presente estudio fue la principal fuente de polen de Cupressaceae encontrado en Badajoz, considerando a) la duración del periodo de floración, b) el número de ejemplares (54,5%) dentro de la ciudad de Badajoz y c) la mayor coincidencia entre los picos máximos de la fenología y del polen encontrado en el aire.

Por otra parte, se debe considerar que gran parte del polen registrado en el captador no está directamente relacionado con el entorno inmediato, ya que pueden ser trasladados desde otras partes de la ciudad. Estudios relacionados muestran la importancia del transporte a media distancia en estas especies (Tormo *et. al.* 2011; Torrigiani *et al.*, 2006). Tormo *et al.* (2011) en la misma zona de estudio que el presente trabajo señalaron que los granos de polen en el aire capturados fuera del período de polinización probablemente provenían de fuentes distantes y por la influencia de fenómenos de resuspensión después del periodo de polinización.

La curva de polen promedio anual de Cupressaceae coincide con lo informado por Hidalgo *et. al.* (2003), mostrando una forma simétrica a pesar de ser el resultado de la contribución parcial de varias especies con una fenología diferente. Sin embargo, dicha curva también muestra un aumento hacia el final de la temporada (última semana de marzo del periodo estudiado) debido a la floración de los árboles de *Cupressus sempervirens* superponiéndose con el pico principal producido por *Cupressus macrocarpa*.

Con respecto a los parámetros meteorológicos, la liberación del polen por las diferentes especies de la familia Cupressaceae se correlaciona positivamente con los recuentos de polen en el aire durante los tres años de estudio. En la mayoría de los casos de las diferentes especies estudiadas, la precipitación y la humedad explican la falta de coincidencia entre la floración y la curva de polen en el aire. La precipitación

produce un efecto de lavado de la atmósfera, mientras que la humedad relativa va a afectar la dehiscencia de las anteras. Además, se puede provocar que los granos de polen se liberen de forma agrupada provocando su deposición y consecuentemente presenten concentraciones bajas en un periodo en el que estas deberían ser más altas. Se han encontrado correlaciones positivas con la temperatura, lo que coincide con lo encontrado por Silva-Palacios *et. al.* (2016b) y Frenguelli *et. al.* (1989), que indican que las correlaciones con la temperatura son generalmente positivas, porque se produce un secado de las anteras, produciendo como consecuencia la dehiscencia y la liberación de granos de polen. Las concentraciones más altas aparecen cuando los vientos son predominantemente SO, coincidiendo con la mayor presencia de árboles en esa parte de la ciudad.

La identificación y geolocalización de todos los ejemplares de la familia Cupressaceae en la ciudad de Badajoz (**Fig. 14**), permite la creación de mapas de riesgo con interés para la salud pública (Pecero-Casimiro *et. al.*, 2020), siendo posible una planificación adecuada del empleo de estas especies como ejemplares ornamentales dentro de la ciudad. Esta información será útil para el análisis de la ubicación de las fuentes polínicas de los ejemplares que rodean el captador con la información meteorológica, como la dirección del viento, que presenta una correlación positiva con la presencia del polen en el aire.

Capítulo III: *HYSPLIT as an environmental impact assessment tool to study the data discrepancies between *Olea europaea* airborne pollen records and its phenology in SW Spain.*

Olea europaea es una especie perennifolia que se mantiene en estado de latencia durante los periodos más desfavorables desde el punto de vista metabólico para volver a activar su tasa fotosintética cuando las condiciones ambientales son favorables para su desarrollo (Rojo 2014). El cultivo del olivo está extendido ampliamente por la región mediterránea debido a su total adaptación al clima mediterráneo y su adecuada productividad en estas condiciones de estrés hídrico durante el verano (Connor 2005; Rojo *et. al.*, 2016; Orlandi *et. al.*, 2020). La alergenicidad de este tipo polínico ha sido ampliamente estudiada debido a que suele ser la principal causa de alergia en la región Mediterránea (D'Amato *et. al.*, 2007), mientras que en el norte y centro de Europa donde su presencia y cultivo son escasos presenta menor importancia médica que en el sur de Europa (D'Amato *et. al.* 1988).

La prevalencia de esta polinosis suele presentar variaciones, por ejemplo, en el sur de Francia o en Italia, donde alcanza un 25% de la población atópica (D'Amato & Liccardi, 1994; Nieto, 2008; Negrini *et. al.*, 1992; Negrini & Arobba 1992), mientras que este valor oscila entre el 22% y 57% en Grecia, dependiendo de la región (Papageogiou, 1999). En España, el porcentaje de población sensibilizada aumenta en el sur. Por ejemplo, en Burgos se ha reportado una incidencia del 2% (Carretero *et. al.* 2005), el 25% en Coruña (Dopazo, 2001), el 61% en Madrid, 66% en Badajoz, 77% en Toledo (Subiza *et. al.*, 1995; Subiza *et. al.*, 1998) y hasta un 85% en Ciudad Real, 90% en Sevilla o 97% en Jaén (Subiza *et. al.*, 1998; Subiza *et. al.*, 1995; De Linares 2007).

Las condiciones meteorológicas varían año tras año, observándose variaciones en la fenología del olivo entre diferentes años de estudio. Durante el periodo de estudio de esta Tesis Doctoral (2016-2019), el polen de *Olea europaea* presentó un marcado carácter primaveral, donde el periodo de polinización principal tiene sus máximos en la tercera semana del mes de mayo y como valor medio a mediados de mayo (16/05), coincidiendo con lo reportado con Nieto (2008) y presentando una variación de hasta ± 4 días respecto a lo observado en otros trabajos similares en España (Rojo *et. al.*,

2016; Galán *et. al.*, 2001b). En cuanto al inicio de la floración de *Olea europaea* durante el periodo de estudio, se ha encontrado que los individuos estudiados inician su floración a finales de abril (30/04), coincidiendo con lo encontrado en el sur de la Península Ibérica de la región mediterránea (Aguilera *et. al.*, 2015) y con lo reportado por Nieto (2008), que reporta un inicio de la época de floración el 24 de abril. Esto suele estar relacionado con las temperaturas durante el invierno, mayores temperaturas durante esta época del año producen una mayor producción de flores e inflorescencias, favoreciendo la salida de la dormancia de las yemas (Galán *et. al.* 2001a).

En los años 2017 y 2019 del presente estudio, la temperatura promedio superó los 14°C y el periodo de floración se inició antes (21/04 y 22/04, respectivamente) en comparación con 2016 y 2018 (06/05 y 11/05, respectivamente), teniendo una duración superior igual a los 30 días; 30 días para 2016 y 33 días para 2018. Cifras que están por encima de lo encontrado para esta especie. La duración del periodo de floración del olivo presenta grandes fluctuaciones entre años y variedades, mostrando una duración media de 14 días que puede oscilar entre los 7 y 22 días, lo que representa un periodo de floración más corto que el de otras especies frutales (Tabuenca & Herrero, 1966).

La floración en el olivo está íntimamente relacionada con los parámetros meteorológicos del invierno previo, especialmente con la temperatura (Aguilera *et al.*, 2015a; Galán *et. al.*, 2005). Este hecho guarda relación con la altitud y la situación topográfica de los cultivos, condicionantes de la existencia de diferencias meteorológicas reflejadas principalmente en fluctuaciones del régimen térmico (Aguilera & Valenzuela, 2009). El hecho de que el momento de la floración esté influido por las temperaturas a partir del mes de febrero y durante el periodo de prefloración parece indicar que el momento de la floración está influido por las temperaturas necesarias para la salida del periodo de dormancia (Rojo 2014; Orlandi *et. al.*, 2020).

Estos factores sumados a la importancia económica de la especie han favorecido una amplia gama de trabajos sobre este tema, llevando incluso a modelos de predicción de la floración hasta de hasta un mes previo (Galán *et. al.* 2001a; Orlandi *et. al.* 2005; Aguilera *et. al.* 2014; Rojo 2014; Orlandi *et. al.*, 2020). Sin embargo, el periodo de prefloración ha sido menos estudiado debido a que el estudio requiere la realización

de observaciones fenológicas de campo (Aguilera *et. al.* 2015a) y que muchas veces se encuentran limitadas por falta de recursos a la hora de obtener un registro fenológico continuo durante años.

Por lo tanto, frecuentemente se han utilizado parámetros fenológicos obtenidos a partir de datos aerobiológicos, pero estos no pueden sustituir las observaciones en campo. El adelanto en el periodo de floración puede interpretarse como un mecanismo de defensa o un fenómeno adaptativo a las altas temperaturas que se pueden presentar durante el verano. Además del aumento de la temperatura en los meses de prefloración, es importante resaltar que la precipitación y/o la disponibilidad de agua tienen un papel importante ya que se ha visto que en los ejemplares con mantenimiento y riego constante inician la floración antes, teniendo periodos de floración más largos (Galán *et. al.* 2001a; Aguilera & Valenzuela 2009; Rojo *et. al.* 2016).

En cuanto a los promedios anuales de acumulación de polen, los encontrados en el presente estudio son inferiores en comparación con los encontrados para otras ciudades españolas como Córdoba, Jaén o Granada que alcanzaron hasta 22 000 granos de polen/m³ (Rojo *et. al.*, 2016). Los valores de concentración máxima diaria oscilan entre 414 granos de polen/m³ (2016) y 1994 granos de polen/m³ (2017), siendo significativa la variabilidad interanual. Dicha variación junto con el total de polen encontrado durante la temporada de polinización se puede explicar desde el punto de vista que *Olea europaea* es considerada una especie con alternancia anual en la floración. Mientras en un año se produce un mayor número de flores y frutos, este número tiende a disminuir al siguiente año (Galera *et. al.*, 2018), fenómeno conocido como la vecería del olivo. El olivo posee en condiciones ambientales estándar un patrón alternante en la intensidad de la floración que deriva en una marcada alternancia de producción de fruto (Oteros, 2014). Este patrón bianual en la intensidad de formación de órganos del ciclo reproductor en olivo se corresponde con un comportamiento inverso de crecimiento vegetativo, de modo que en años de “carga” de fruto el crecimiento vegetativo es menor que en años de “descarga” de fruto (Oteros, 2014). La floración va a depender de los procesos fisiológicos que ocurren a lo largo de un ciclo bianual, existiendo una fluctuación en la producción de flores y de polen asociado a este fenómeno. De esta manera, los años con bajas concentraciones (2016

y 2018) durante el periodo de polinización, vienen seguidos por años con altas concentraciones de polen durante el periodo de polinización (2017 y 2019).

Sin embargo, no siempre se ha registrado una coincidencia entre el registro de polen en el aire y los registros fenológicos, considerándose estos desajustes con el análisis de dispersión de partículas y sugiriendo que para los años 2017 y 2018 algunos episodios de polen encontrado fuera del periodo de floración pudieran tener su origen en fuentes de larga distancia. Específicamente para el año 2017, el máximo de concentración (03/05) se produjo 9 días antes que el máximo de floración (12/05), pudiendo deberse al hecho que el polen transportado de larga distancia por el viento procedente del sureste y desde regiones con temperaturas más altas que pudieron adelantar el periodo de floración en esta zona de la Península Ibérica. Estos resultados están en línea con lo reportado por Nieto (2008) que registra un inicio de la floración más de una semana antes en comparación con este estudio. Por otra parte, dichas zonas cuentan con un alto porcentaje de cultivos de olivo de distintas variedades y algunas de estas variedades florecen antes. Específicamente, la situación meteorológica sinóptica con vientos procedentes del sur del 3 de mayo de 2017 pudo haber transportado el polen desde olivares de zonas de Andalucía como Córdoba, que, junto con Jaén y Granada, tienen la mayor superficie y densidad de cultivos de olivo en España. Estos aportes de concentraciones de polen de *Olea* procedentes del SE de la Península Ibérica en el sitio de estudio también fueron estudiados por Fernández-Rodríguez et al., (2020).

En el estudio del año 2018 el origen del polen encontrado fuera del periodo de floración se puede haber atribuido a Portugal, probablemente a fuentes provenientes de la región del Alentejo que alberga casi la mitad de los olivares de Portugal (Fernández-Rodríguez *et. al.* 2014). Es importante resaltar que el transporte de larga distancia es muy importante para especies con polen pequeño como lo es el polen de *Olea europaea* (Hernández-Ceballos *et. al.* 2011). Además del tamaño, la gran cantidad de granos de polen que produce *Olea europaea* facilita el transporte del polen de forma pasiva por el viento recorriendo distancias considerables apareciendo en zonas donde no son plantas frecuentes, como en Almería, que presenta grandes cantidades de polen en su atmósfera (Sabariego, 2003).

Con este tipo de estudios se deja ver que la presencia de polen de *Olea europaea* va a estar determinada fuertemente por factores meteorológicos como la dirección del viento y la temperatura, así como por las fuentes potenciales de procedencia. Fernández-Rodríguez *et al.* (2014) para la misma área, informaron que la presencia del polen de *Olea europaea* puede estar determinada por estos fenómenos de transporte, ya que, debido a su tamaño y cantidad, puede ser transportado a largas distancias. Según Cautelares *et al.* (2004) se considera que un tipo polínico forma parte de la vegetación local cuando esta está presente en un margen de hasta 30 km desde el punto de captación.

Skjøth *et al.* (2010) destacan la importancia de las fuentes más cercanas a los captadores, al igual que lo encontrado por Maya-Manzano *et al.* (2017b) en la misma región, pero en distintas ciudades. Cuando se sobrepasa esta distancia, se considera que el grano de polen tiene procedencia de media o larga distancia. De esta manera se justifica la importancia del modelo HYSPLIT como herramienta fundamental para el estudio del transporte de larga distancia y para localizar las posibles fuentes de origen cuando se encuentra polen fuera del periodo de floración de la vegetación cerca al área de estudio (Maya-Manzano *et al.* 2016).

8. Conclusiones

1. En el estudio aerobiológico realizado en Badajoz desde 2015 a 2019 se identificaron y contabilizaron 37 tipos polínicos diferentes, de los cuales *Fraxinus* registró una integral estacional de polen (SPIn) promedio de 566 granos de polen*día/m³, Cupressaceae con 3501 granos de polen*día/m³ y *Olea* con 9835 granos de polen*día/m³.
2. Existe una clara estacionalidad en la floración de *Fraxinus angustifolia*, *Olea europaea* y la familia Cupressaceae con un promedio en la duración de la floración de 30 días. Los factores meteorológicos más influyentes para determinar el inicio y fin de la floración son la precipitación y la temperatura respectivamente.
3. No siempre existe una coincidencia entre los picos máximos fenológicos con los picos máximos de concentraciones polínicas de *Fraxinus angustifolia* y *Olea europaea*. Dentro de los factores que influyen en esta divergencia se pueden señalar a la precipitación, la humedad relativa, el transporte a media-larga distancia, características propias del método de muestreo empleado y la ubicación de la fuente de origen dentro de la ciudad y con respecto al captador.
4. La identificación y geolocalización de todos los ejemplares vegetales en la ciudad de Badajoz permite un mejor análisis del comportamiento de los diferentes tipos polínicos en la atmósfera.
5. *Fraxinus angustifolia* inicia el inicio de floración entre finales de noviembre y principios de diciembre, al iniciarse el acortamiento de los días en invierno, favoreciendo el florecimiento, mientras que lo finaliza a principios de febrero.

6. En la última década (2006 a 2017) existe un retraso de tres semanas en el inicio de la floración de *Fraxinus angustifolia*, así como en la duración, pudiendo ser atribuibles al incremento de la temperatura global.
7. La no coincidencia entre los picos fenológicos con los máximos polínicos de *Fraxinus angustifolia* se debe principalmente a la precipitación, a la ubicación de sus ejemplares con respecto al captador y la dirección del viento predominante, así como posibles sesgos producidos por el método de muestreo en capas altas de los árboles.
8. *Cupressus sempervirens* fue la principal fuente de polen de Cupressaceae encontrado en la atmósfera de Badajoz, considerando la duración del periodo de floración, el número de ejemplares dentro de la ciudad, así como la mayor coincidencia entre los picos máximos de la fenología y del polen encontrado en el aire.
9. La no coincidencia entre los picos fenológicos con los máximos polínicos de Cupressaceae se explica por la precipitación, humedad relativa y la ubicación del captador con respecto a los ejemplares.
10. La duración del periodo de floración de *Olea europaea* presenta fluctuaciones entre años, mostrando una duración media de 14 días que puede oscilar entre los 7 y 22 días. Además, los valores de concentración máxima oscilan entre 414 granos de polen/m³ (2016) y 1994 granos de polen/m³ (2017) siendo significativa la variabilidad interanual y dejando en evidencia la vecería de dicha especie.
11. La presencia de polen de *Olea europaea* va a estar determinada fuertemente por factores meteorológicos como la dirección del viento y la temperatura.

12. El modelo HYSPLIT resultó útil para localizar posibles fuentes de origen del polen de *Olea* en episodios de altas concentraciones polínicas registradas fuera del periodo de floración de la vegetación circundante.
13. El transporte a media-larga distancia y la humedad relativa son los factores que explican la no coincidencia entre los picos fenológicos con los máximos polínicos del tipo polínico de *Olea*.

9. Bibliografía

- Aguilera F. & Valenzuela L. 2009. *Periodo de floración del olivo (Olea europea L.) en la provincia de Jaén*. Conferencia: XIV Simposium científico-técnico del aceite de oliva: Jaén (España).
- Aguilera F., Orlandi F., Ruiz L., Galán C., García-Mozo H., Bonofiglio T., Oteros J., Díaz de la Guardia C., Trigo M.M., Pérez R. & Fornaciari M. 2014. *La floración del olivo (Olea europaea L.) como elemento bioindicador de cambios en el clima mediterráneo: análisis preliminar*. Conference paper. El aceite de Oliva. Actas simposio Expoliva 2013, Jaén (España) 8-11 mayo.
- Aguilera F., Ben A., Msallem M., Orlandi F., Bonofiglio T., Ruiz-Valenzuela L., Galán C., et. al. 2015. *Airborne-pollen maps for olive-growing áreas throughout the Mediterranean region: spatio-temporal interpretation*. Aerobiologia (31)421-434.
- Aguilera F., Fornaciari M., Ruiz-Valenzuela L., Galán C., Msallem M., Dhiab AB., Díaz de la Guardia C., et. al. 2015a. *Phenological models to predict the main flowering phases of olive (Olea europaea L.) along a latitudinal and longitudinal gradient across the Mediterranean region*. Int J Biometeorol. May 59(5):629-41.
- Aira M., Dopazo A. & Jato M.J. 2001. *Aerobiological monitoring of Cupressaceae pollen in Santiago de Compostela (NW Iberian Peninsula) over six years*. Aerobiologia 17: 319-325.
- Alba F. 1997. *Caracterización polínica de la atmósfera de Granada. Relación con las variables meteorológicas y modelos predictivos de los taxones más alergógenos*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- Alba F., Díaz de la Guardia C. & Comtois P. 2000. *The effect of meteorological parameters on diurnal patterns of airborne olive pollen concentration*. Grana 39: 200-208.
- Alba F., Díaz de la Guardia C., De Linares C., Nieto-Lugilde D. & Sabariego S. 2010. *Aerobiological behaviour of six anemophilous taxa in semi-arid*

- environments of southern Europe (Almería, SE Spain). Journal of Arid Environments* 74(11): 1381-1391.
- Andersen T. 1991. *A model to predict the beginning of the pollen season*. Grana 30: 269-275.
 - Augspurger C. K., & Bartlett E. A. 2003. *Differences in leaf phenology between juvenile and adult trees in a temperate deciduous forest*. Tree Physiology, 23, 517–525.
 - Bai Y., Li X. & Chai Q. 2013. *A review of error estimation in Land Data Assimilation Systems*. En: Liang S. & Xie X (Eds): Land surface observation, modeling and data assimilation. World Scientific. Pp 235-334.
 - Basky Z. & Magyar D. 2008. *Impact of indigenous aphids on development of the invasive common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.) in Hungary*. Journal of Pest Science 82: 19-25.
 - Batista-Díaz J. 1942. *Las observaciones fenológicas indicaciones para su implantación en España*. Madrid, España: Servicio Meteorológico Nacional, Ministerio del Aire.
 - Batista-Díaz J. 1943. *Atlas de plantas para las observaciones fenológicas*. Madrid, España: Servicio Meteorológico Nacional, Ministerio del Aire.
 - Belmonte J. 1988. *Identificació, estudi i evolució anual del contingut pol·línic a l'atmosfera de Catalunya i Balears*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, España.
 - Belmonte J., Canela M., Guardia R., Guardia R.A., Sbai L., Vendrell M., Cariñanos P., Díaz de la guardia C., Dopazo A., Fernández D., Gutiérrez M. & Trigo M.M. 1999. *Aerobiological dynamics of the Cupressaceae pollen in Spain, 1992-98*. Polen 10:27-38.
 - Bicakci A., Tosunoglu A., Altunoglu M. K., Saatcioglu G., Keser A. M., & Ozgokce F. 2017. *An aeropalynological survey in the city of Van, a high altitudinal region. East Anatolia-Turkey*. Aerobiologia, 33, 93–108.
 - Bortenschlager S. 1989. *Aspects of pollen morphology in the Cupressaceae*. Grana 29(2) 129-138.

- Bousquet J., Knani J., Heijaoui A., Fernando R., Cour P., Dhivert H. & Michael FB. 1993. *Heterogeneity of atop. I. Clinical and immunologic characteristics of patients allergic to cypress pollen*. Allergy 48(3): 183-188.
- Bricchi E., Fornaciari M., Giannoni C., Greco F., Fascini G., Frenguelli G., Mincirgrucci G. & Romano B. 1992. *Fluctuations of grass pollen content in the atmosphere of East Perugia and meteorological correlations*. Aerobiología, 8: 401-406.
- Burbach G.J., Heinzerling L. M. & Hedenharther G. 2009. GA2LEN skin test Study II: *Clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe*. Allergy 64: 1507- 1515.
- Burns E., Chmielewski F.M. & VanVliet A.J. 2013. *The global phenological monitoring*. In M. Schwartz (Ed) Phenology: An integrative environmental science. 2.6.1-12. Berlon: Springer.
- Cabrera M. & Subiza J. 2008. *Polinosis de invierno: la contaminación y el cambio climático agudizan y prolongan los síntomas*. Alergia (2):1-8.
- Calderón-Ezquerro M. C., Guerrero-Guerra C., Martínez-López B., Fuentes-Rojas F., Téllez-Unzueta F., López-Espinoza E. D., et al. 2016. *First airborne pollen calendar for Mexico City and its relationship with bioclimatic factors*. Aerobiologia, 32, 225–244.
- Candau P., González-Minero F. & Romero, F. 1994. *Aeropalynology of Fraxinus (ASH) in an urban area of southwestern Spain*. Aerobiologia, 10, 47–51.
- Cariñanos P., Galán C., Alcázar P. & Domínguez E. 2000. *Meteorological phenomena affecting the presence of solid particles suspended in the air during winter*. Int. J. Biometeorol., 44:6-10.
- Cariñanos P. & Casares-Porcel M. 2011. *Urban green zones and related pollen allergy: a review. Some guidelines for designing spaces with low allergy impact*. Landscape and Urban Planning 101: 205-214.
- Cariñanos P., Casares, M., & Quesada, J. M. 2014. *Estimating the allergenic potential of urban green spaces: A case-study in Granada*. Landscape and Urban Planning, 123, 134–144.

- Carretero P., Juste Picón S., García F., Alloza P., Pérez R., Blanco J., Reinares C., et. al. 2005. *Pólenes alergénicos y polinosis en la ciudad de Burgos*. *Alergol. Inmunol. Clin* (20): 90-94.
- Castells M.C. 1997. *Mast cells: Molecular and cell biology*. *Rev. Esp. Alergol Inmunol Clin.* (12) 6: 327-339.
- Charalampopoulos A., Lazarina M., Tsiripidis I. & Vokou D. 2018. *Quantifying the relationship between airborne pollen and vegetation in the urban environment*. *Aerobiologia* 34 (3): 285-300.
- Charpin D., Pichot C., Belmonte J., Sutra J.P., Zidkova J., Chanez P., Shahali Y. Sénéchal H. & Poncet P. 2017. *Cypress Pollinosis: from tree to Clinic*. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2017: 1-22.
- Cleland EE, Chuine I, Menzel A, Mooney HA. & Schwartz MD. 2007. *Shifting plant phenology in response to global change*. *Trends Ecol Evol* 22:357–365. <https://doi:10.1016/j.tree.2007.04.003>
- Connor D.J. 2005. *Adaptation of olive (Olea europaea L.) to water-limited environments*. *Aust J. Agric Res* 56:1181-1189.
- Cook B., Wolkovich E.M. & Parmesan C. 2012. *Divergent responses to spring and winter warming drive community level flowering trends*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109(239): 9000-9005.
- D'Amato G. & Liccardi G. 1994. *Pollen-related allergy in the European Mediterranean area*. *Clin. Exp., Allergy* (24): 210-219.
- D'Amato G., Mullins J., Nolard N., Spiekma F. & Wachter R. 1998. *City spore concentrations I the European Economic Community (EEC). VII. Oleaceae (Fraxinus, Ligustrum, Olea)*. *Clin Exp., allergy* (18): 541-547
- D'Amato G., Cecchi L., Bonini S., Nunes C., Annesi-Maesano I., Behrendt H., et al. 2007. *Allergenic pollen and pollen allergy in Europe*. *Allergy*, 62, 976–990.
- Dahl A., Galán C., Hajkova L., Pauling A., Sikoparija B., Smith M. & Vokou D. 2013. *The onset, course and intensity of the pollen season*. En: Sofiev M. & Bergmann K. (eds). *Allergenic Pollen: A Review of the Production, Release,*

- *Distribution and Health Impacts*. Springer; 2013. ISBN-13: 978-9400748804 ISBN-10: 9400748809.
- Damialis A., Fotiou C., Halley J. M. & Vokou, D. 2011. *Effects of environmental factors on pollen production in anemophilous woody species*. Trees, 25, 253.
- Damialis A., Kaimakamis E., Konoglou M., Akritidis I., Traidl-Hoffmann C., & Gioulekas, D. 2017. *Estimating the abundance of airborne pollen and fungal spores at variable elevations using an aircraft: How high can they fly?* Scientific Reports, 7, 44535.
- Darder J.B & F. Durham. 1936. *Los problemas de la alergia respiratoria. Estudio del factor polínico del aire de Barcelona*. Revista Médica de Barcelona, 25: 291-332.
- De Castro Alfageme S. & Fernández D. 2004. *Aerobiología y polinosis en Castilla y León*. Junta de Castilla y León.
- De Weger L.A., Pashley, C.H., Šikoparija, B. et. al. 2016. *The long distance transport of airborne Ambrosia pollen to the UK and the Netherlands from Central and south Europe*. Int J Biometeorol 60, 1829–1839. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1170-7>.
- Devesa J.A. 1995. *Vegetación y flora de Extremadura*. Universitas Editorial. España. 773 pp.
- Díaz de la Guardia C., Alba F., De Linares C., Nieto-Lugilde D. & López-Caballero J. 2006. *Aerobiological and allergenic analysis of Cupressaceae pollen in Granada (Southern Spain)*. J Investig Allergol Clin Immunol 16(1):24-33.
- Docampo F. S. 2008. *Estudio aerobiológico de la atmósfera de la costa oriental de Málaga (sur de España) e incidencia de las esporas fúngicas en el interior de la Cueva de Nerja*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga.
- Domínguez Vilches E. 1992. *The Spanish Aerobiology Network (REA)*. Aerobiologia, 8(2/1): 45-46.

- Donnelly A., Jones M.B., Sweeny J. 2004. *A review of indicators of climate change for use in Ireland*. International Journal of Biometeorology 49: 1-12.
- Dopazo A. 2001. *Variación estacional y modelos predictivos de polen y esporas aerovagantes en Santiago de Compostela*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.
- Draxler R.R. & Hess G. 1998. *An overview of the HYSPLIT_4 modelling system for trajectories, dispersion and deposition*. Australian Meteorological Magazine 47(4):295-308.
- Draxler R.R. & Rolph G. 2014. *HYSPLIT (Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory) Model access via NOAA ARL READY Website* (<http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>). NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD.
- EAN. 2015. European Aerollergen Network. <https://www.ean-net.org/en.html>
- EAS. 2020. European Aerobiology Society. <http://www.eas-aerobiology.eu/>
- Edmonds R.L. & Benninghoff W. 1973. *Aerobiology and Its Modern Applications: A Discipline of Investigations of Aerial Transport of Biological Materials Important to Human Health and Welfare*. US/IPB Aerobiology Report nº 3. Botany Department, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 1973: 1-18.
- Elmqvist T., Alfsen C. & Colding J. 2008. *Urban systems*. En: Sven E. & Brian D.F. (Eds): Encyclopedia of Ecology PP. 3665-3672. Academic Press
- Emerbil J. 1995. *Pollen dispersal. Aerobiology, aerodynamics, and pollen samplings*. Second European Aerobiology Course: Assesment of airborne pollen concentrations. Leiden, Holanda.
- Endsley K. 2018. *Remote Sensing of Socio-Ecological dynamics in urban Neighborhoods*. En: Liang S. (ed). Comprehensive Remote Sensing Vol 9. Elsevier. 90-105.
- Erdtman G. 1952. *Pollen Morphology and Plant Taxonomy Angiosperms*. Almqvist and Wiksell, Stockholm, 539.
- Estrella N., Menzel A., Krämer U. & Behrendt H. 2006. *Integration of flowering dates in phenology and pollen counts in aerobiology: analysis of*

- their spatial and temporal coherence in Germany (1992-1999)*. International Journal of Biometeorology 51: 49-59.
- Fang, C. F., & Ling, D. L. 2005. *Guidance for noise reduction provided by tree belts*. Landscape and Urban Planning, 71, 29–34.
 - Fèher Z. & Jarai-Komlodi M. 1997. *An examination of the main characteristics of the pollen seasons in Budapest, Hungary (1991–1996)*. Grana 36: 169-174
 - Fernández M. 2011. *Estudio fenológico y aerobiológico en un viñedo en la comarca del Ribeiro*. Tesis Doctoral. Universidad de Vigo.
 - Fernández-González M., González E., Vara A. & Piña A. 2016. *El polen de Fraxinus como fuente de contaminación ambiental*. Rev. salud ambient. 16(1):52-61.
 - Fernández-Rodríguez S., Skjøth C., Tormo-Molina R., Brandao R., Caeiro E. & Silva-Palacios I. 2014. *Identification of potencial sources of airborne Olea pollen in the Southwest Iberian Peninsula*. Int J Biometereol (58):337-348.
 - Fernández-Rodríguez, S., Durán Barroso, P., Silva Palacios, I., Tormo Molina, R., Maya Manzano, JM., & Gonzalo Garijo, A. 2016. *Regional model to forecast Olea pollen season in Extremadura (SW Spain)*. International Journal of Biometeorology 60 (10): 1509-1517.
 - Fernández-Rodríguez S., Cortés-Pérez J.P., Prieto P., Tormo-Molina R. & Maya-Manzano J.M. 2018. *Environmental impact assessment of Pinaceae airborne pollen and green infrastructure using BIM*. Automation in Construction. 96: 494-507.
 - Fernández-Rodríguez S., Maya-Manzano J.M., Monroy-Colín A., Pecero-Casimiro R., Buters J. & Oteros J. 2020. *Understanding hourly patterns of Olea pollen concentrations as tool for the environmental impact assessment*. Science of the Total Environment. 736 (2020) 139363.
 - Frenguelli G. 1998. *The contribution of Aerobiology to agriculture*. Aerobiología 14 (2,3): 95-100.
 - Frenguelli G., Bricchi E., Romano B., Mincigrucci G. & Spicksma F. 1989. *A predictive study of the beginning of the pollen season for Gramineae and Olea europaea L.* Aerobiologia 5:64-70.

- Galán C., Cuevas J., Infante F. y Domínguez-Vilches E. 1989. *Seasonal and diurnal variation of pollen from Gramineae in the atmosphere of Córdoba (Spain)*. Allergologic et Immunopathology 17(5): 245-249.
- Galán C., Tormo R., Cuevas J., Infante F. & Domínguez E. 1991. *Theoretical daily variation patterns of airborne pollen in the South-West of Spain*. Grana 30: 201-209.
- Galán C., J. Emberlin E. Domínguez R.H. Bryant y F. Villamandos. 1995. *A comparative analysis of daily variations in the Gramineae pollen counts at Córdoba, Spain and London, UK*. Grana, 34: 189-198.
- Galán C., Cariñanos P., García-Mozo H., Alcázar P. & Domínguez-Vilches E. 2001a. *Model for forecasting Olea europaea L. airborne pollen in South-West Andalusia, Spain*. Int J Biometereol 45: 59-63.
- Galán C., García-Mozo H., Cariñanos P. & Alcázar P. 2001b. *The role of temperatura in the onset of the Olea europaea L. pollen season in southwestern Spain*. Int J Biometeorol 2001 45:8-12.
- Galán C., Cariñanos P., Alcázar P. & Domínguez E. 2007. *Manual de Calidad y Gestión de la Red Española de Aerobiología*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. Córdoba, España.
- Galán C., Ariatti A., Bonini M., Clot B., Crouzy B., Dahl A., Fernandez-González D., Frenguelli G., et. al. 2017. *Recommended terminology for aerobiological studies*. Aerobiologia 33, 293–295. <https://doi.org/10.1007/s10453-017-9496-0>.
- Galera M., Elvira-Rendueles B., Moreno J., Negral L., Ruiz-Abellón M., García-Sánchez A. & Moreno-Grau S. 2018. *Analysis of airborne Olea pollen in Cartagena (Spain)*. Science of the total Environment 622-633: 436-445.
- García-Mozo H, Mestre A. & Galán C. 2010. *Phenological trends in southern Spain: a response to climate change*. Agric For Meteorol 150(4): 575–580. <https://doi:10.1016/j.agrformet.2010.01.023>
- Gastaminza G., Bartolomé B., Bernedo N., Uriel O., Audicana M., Fernández E & Muñoz D. 2005. *Oleaceae pollen allergy in a place where there's no olive trees*. Alergol Inmunol Clin 2005; 20:131-138.

- González Minero F.J., Iglesias I., V. Jato, M.J. Aira, P. Candau, J. Morales & Tomas C. 1998. *Study of the pollen emissions of Urticaceae, Plantaginaceae and Poaceae at five sites in western Spain*. *Aerobiología*, 14(2): 117-129.
- Gonzalo-Garijo M., Tormo-Molina R., Muñoz-Rodríguez A. & Silva—Palacios I. 2006. *Differences in the spatial distribution of airborne pollen concentrations at different urban locations within a city*. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 16(1), 37–43.
- Gordo O. 2007. *La fenología nos alerta del cambio climático*. *Quercus* 253. Pp 37-41.
- Gordo O. & Sanz J.J. 2010. *Impact of climate change on plant phenology in Mediterranean ecosystems*. *Global change Biology* 16(3): 1082-1106.
- Gregory P.H. 1973. *The microbiology of the atmosphere*. Ed. Leonard Hill, Plymouth, UK.
- Hall S. 1992. *Comparative pollen influx at a nine-array in the grand prairie of Northern Texas*. *The Texas Journal of Science* 44: 469-474.
- Hanewinkel M., Cullmann D., Schelhaas M. *et al.* 2013. *Climate change may cause severe loss in the economic value of European forest land*. *Nature Clim Change* 3, 203–207. <https://doi.org/10.1038/nclimate1687>.
- Heinzerling L., Burbach G., Edenharter G., *et al.* 2009. *GA(2)LEN skin test study I: GA(2)LEN harmonization of skin pricktesting: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe*. *Allergy* 64(10):1498–1506.
- Hemmer W., Focke M., Wantke F., Gotz M., Jarisch R. & Jager S. 2000. *Ash (Fraxinus excelsior)-pollen allergy in central Europe: specific role of pollen panallergens and the major allergen of ash pollen, Fra e 1*. *Allergy* 55, 923–930.
- Hernández-Ceballos M.A, García-Mozo H., Adame J.A., Domínguez-Vilches E., De la Morena B., Bolívar J. & Galán C. 2011. *Synoptic and meteorological characterisation of olive pollen transport in Córdoba province (south-western Spain)*. *International Journal of Biometereology* 55: 17-34.

- Hernández-Ceballos M.A., García-Mozo H., Adame J.A. & Galán C. 2012. *Last advances in the study of olive airborne pollen dynamic*, Olive Consumption and Health, pp. 155-176.
- Hernández-Ceballos, M.A., García-Mozo H. & Galán C. 2014. *Cluster analysis of intradiurnal holm oak pollen cycles at peri-urban and rural sampling sites in southwestern Spain*. International Journal of Biometeorology.
- Hidalgo P., Galán G. & Domínguez E. 2003. *Male phenology of the three species of Cupressus: correlation with airborne pollen*. Trees (17): 4. 336-334.
- Hidalgo-Galvez H., García-Mozo H., Oteros J., Maestre A., Botey R. & Galán C. 2017. *Phenological behaviour of early spring flowering trees in Spain in response to recent climate changes*. Theoretical and Applied Climatology. doi: <https://doi.10.1007/s00704-017-2089-6>
- Hirst J.M. 1952. *An automatic volumetric spore-trap*. Ann. Appl. Biol., 39:257-265.
- Hooker W. & Bauer F. 1842. *Genera Filicum, or illustrations of the Genera of Ferns and other Allied Genera*. Henry G. Bohn. London. 130 Pp.
- Hoop R.J., 1974. *Sistema de observación fenológica en plantas*. En: Phenology and Seasonality Modeling. Edited by Helmut Lieth. P.p 25-29.
- Hrabina M., Dumur J.P., Sicard H., Viatte A. & Andre C. 2003. *Diagnosis of cypress pollen allergy: in vivo and in vitro standardization of a Juniperus ashei pollen extract*. Allergy 58(8): 808-813.
- INE. 2020. Instituto Nacional de Estadística. www.ine.es.
- Ingold CT. 1999. *Active liberation of reproductive units in terrestrial fungi*. Mycologist 13: 113-116.
- IPCC. 2013. *Working Group I Technical Support Unit. Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Part of the Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Stocker TF, Qin D, Plattner GK, Tignor MMB, Allen SK, Boschung J, Nauels A, Xia Y, Bex V, Midgley PM (eds.).
- IPCC. 2019. *Calentamiento global de 1.5°C: resumen para responsables de políticas*. Masson-Delmotte V., Hans-Otto P., Skea J., Pirani A., Picock R.,

- Chen Y., Zhai P., Roberts D., Shukla P., Pean C., Matthews J.B & Gomis M. (eds)
- Jato V., Rodríguez-Rajo F., Dacosta N. & Aira M. 2004. *Heat and chill requirements of Fraxinus flowering in Galicia (NW Spain)*. Grana, 43, 217–223.
 - Jato V., Rodríguez-Rajo F., Alcázar P., De Nuntiis P., Galán C., Mandrioli P. 2006. *May the definition of pollen season influence aerobiological results?* Aerobiologia 22: 13-25.
 - Jäger S., Nilsson S., Berggren B., Pessi A., Helander M. & Ramfjord H. 1996. *Trends of some airborne tree pollen in the Nordic Countries and Austria, 1980-1993. A comparison between Stockholm, Trondheim, Turku and Vienna*. Grana 35: 171-178.
 - Kasprzyk I., Uruska A., Szczepanek K., Latałowa M., Gawel J., Harmata K., et al. 2004. *Regional differentiation in the dynamics of the pollen seasons of Alnus, Corylus and Fraxinus in Poland (preliminary results)*. Aerobiologia, 20, 141–151.
 - Katelaris C., Burke T. & Byth K. 2004. *Spatial variability in the pollen count in Sydney, Australia: can one sampling site accurately reflect the pollen count for a region?* Ana. Alergia Asma Immunol. 93(2): 131 – 136
 - Knox R.B. 1993. *Grass pollen, thunderstorms and asthma*. Clinical & Experimental Allergy, 23 (5): 354-359.
 - Kubik-Komar, A., Piotrowska-Weryszko K., Weryszko-Chmielewska E. & Michał Kaszewski B. 2018. *Analysis of Fraxinus pollen seasons and forecast models based on meteorological factors*. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 25(2): 285-291.
 - Lara B. 2020. *Incidencia de las concentraciones de polen alergénico del tipo Platanus en el centro de la península*. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha.
 - Lastra J.J. 2001. *Bosques naturales de Asturias*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Oviedo. Pp. 123-127.

- Latalowa M., Mietus M., Uruska A. 2002. *Seasonal variations in the atmospheric Betula pollen count in Gdansk (Southern Baltic Sea) in relation to meteorological parameters*. Aerobiologia 18: 33-43.
- Latalowa M., Uruska A., Pedziszewska A., Gora M. & Dawidowska A. 2005. *Diurnal patterns of airborne pollen concentrations of the selected tree and herb taxa in Gdansk (northern Poland)*. Grana 44(3): 192-201.
- Lejoly G. & Leuschner R. 1983. *Comparison of airborne pollen at Louvain-la-Neuve (Belgium) and Basel (Switzerland) during 1979 and 1980*. Grana 22: 59-64.
- Limpert E., Burke J., Galán C., Trigo M.M., West J. & Stahel W. 2008. *Data, not only in aerobiology: how normal is the normal distribution?* Aerobiologia 24: 121-124.
- Lindley J. 1830. *Illustrations of Orchidaceous plants by Francis Bauer*. London: James Ridgway and sons. Londres
- Mandrioli P., P. Comtois y V. Levizzani. 1998. *Methods in Aerobiology*. Pitagora Editrice Bologna. Bologna, Italia.
- MAPA. 2009. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). *Mapa de cultivos y aprovechamientos 2000-2010*. www.mapa.gob.es/es/cartografia-y-sig/publicaciones/agricultura/mac_2000_2009.aspx.
- Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., Smith M., Tormo-Molina R., Reynolds A., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo, Á. & Sadyś M. 2016. *Airborne Quercus pollen in SW Spain: Identifying favourable conditions for atmospheric transport and potential source areas*. Science of the Total Environment 571, 1037-1047.
- Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I. y Gonzalo-Garijo A. 2017a. *Distribution of ornamental urban trees and their influence on airborne pollen in the SW of Iberian Peninsula*. Landscape and Urban Planning 157: 434-446.
- Maya-Manzano J.M., Sadyś M., Tormo Molina R., Fernández Rodríguez S., Oteros J., Silva Palacios I. y Garijo, A. 2017b. *Relationships between airborne*

- pollen grains, wind direction and land cover using GIS and circular statistics. Science of the Total Environment* 584-585:603-613.
- Meier, U. 2001. *Estadios de las plantas mono y dicotiledóneas*. BBCH Monografía. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura.
 - Menzel A, Sparks TH, Estrella N, Koch E, Aasa A, Ahas R., *et. al.* 2006. *European phenological response to climate change matches the warming pattern*. *Glob Chang Biol* 12:1969–1976.DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01193.x>
 - Menzel A. 2002. *Phenology: its importance to the global change community*. *Climatic change*, 54(4), 379-385.
 - Monroy-Colín A., Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M. y Fernández-Rodríguez S. 2018. *Environmental analysis of airborne pollen occurrence, pollen source distribution and phenology of Fraxinus angustifolia*. *Aerobiologia* 34(4):269-283.
 - Monroy-Colín A., Maya-Manzano J.M., Tormo-Molina R., Pecero-Casimiro R., Gonzalo-Garijo Á. & Fernández-Rodríguez S. 2020a. *HYSPLIT as an environmental impact assessment tool to study the data discrepancies between Olea europaea airborne pollen records and its phenology in SW Spain*. *Urban Forestry and amp; Urban Greening*. Doi: 10.1016/j.ufug.2020.126715.
 - Monroy-Colín A., Maya-Manzano J.M., Silva-Palacios I., Tormo-Molina R., Pecero-Casimiro R., Gonzalo-Garijo Á. & Fernández-Rodríguez S. 200b. *Phenology of Cupressaceae urban infrastructure related to their pollen content and meteorological variables*. *Aerobiologia*. DOI: 10.1007/s10453-020-09645-9.
 - Moral de Gregorio A. 2003. *Aerobiología y polinosis por Cupresáceas en España*. *Allergol Immunol Clin.*;18(3):25-34.
 - Moral de Gregorio A., Senent-Sánchez C. J., García-Gómez E., y Pérez-Badía R. 2016. *Familia Oleaceae*. In C. J. Senent-Sánchez, A. Moral de Gregorio, E. García-Gómez, & R. Pérez-Badía (Eds.), *Manual de Alergopalinología, Plantas, Pólenes y Proteínas* (pp. 141–161). Milkpost: Toledo.

- Moreno-Grau S., Aira M.J., Elvira-Rendueles B., Fernández-González M., Fernández-González D., García-Sánchez A., Martínez-García M.J., Moreno J.M., Negral L., Vara A. & Rodríguez-Rajo F. 2016. *Assessment of the Olea pollen and its major allergen Ole e 1 concentrations in the bioaerosol of two biogeographical areas*. Atmospheric Environment 145: 264-271.
- Moulton S. ed. Aerobiology. American Association for the Advancement of Science. Washington. 1942. 17: 1-289
- MITECO. 2018. *Evaluación de la calidad del aire en España (Año 2018)*. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico.
- MITECO. 2020. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. <https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/calidad-del-aire/salud/particulas.aspx>
- SCBS. 2020. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. <https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfNoTransmisibles/alergias.htm>
- Munuera M., Carrión J.S., Navarro C., Orts L., Espín A., Sáez F. & García J. 2001. *Polen y Alergias. Guía de las plantas de polen alergógeno de la Región de Murcia y España*. DM, Libreto-Editor, Murcia.
- Munuera M. 2004. *Captación y cuantificación de pólenes*. AlergoMurcia. Murcia, España.
- Negrini A. C., & Arobba D. 1992. *Allergenic pollens and pollinosis in Italy: Recent advances*. Allergy (47): 371-379.
- Negrini A.C., Ariano R., Delbono G., Ebblí A., Quaglia A. & Arobba D. 1992. *Incidence of sensitization to the pollen or Urticaceae (Parietaria), Poaceae and Oleaceae (Olea europaea) and pollen rain in Liguria (Italy)*. Aerobiologia (8): 355-358
- Niederberger V., Purohit A., Oster J., Spitzauer S., Valenta R. & Pauli G. 2002. *The allergen profile of ash (Fraxinus excelsior) pollen: Cross-reactivity with allergens from various plant species*. Clinical & Experimental Allergy 32(6):933-941.

- Nieto D. 2008. *Estudio aerobiológico de la zona costera de la provincia de Granada (Motril): Evolución de las concentraciones de polen y esporas*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- Nilsson S. 1992. *Aerobiology; An interdisciplinary and limitless science*. Ind. J. Aerobiol. Special Volume: 23-27.
- Nilsson S. & Persson S. 1981. *Tree pollen spectra in the Stockholm region (Sweden) 1973–1980*. Grana 20: 179-182.
- Nilsson S., Praglowski J. y Nilsson L. 1977. *Airborne Pollen Grains and Spores in Northern Europe*. Ljungföretagen, Sweden.
- Norris-Hill J. y Emberlin J. 1991. *Diurnal variation of pollen concentration in the air of north-central London*. Grana 30: 229-234.
- Ochoa de la Torre J.M. 1999. *La vegetación como instrumento para el control microclimático*. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Ogren L. 2002. *Trees, shrubs and urban allergies*. WAA Annual Conference. Wisconsin ANR Urban Forestry Conference.
- Okuyama Y, Matsumoto K, Okochi H. & Igawa M. 2007. *Adsorption of air pollutants on the grain surface of Japanese cedar pollen*. Atmospheric Environ 41(2):253–260.
- Orlandi F., Romano B. & Fornaciari M. 2005. *Effective pollination period estimation in olive (Olea europaea L.): a pollen monitoring application*. Scientia Horticulture 105 (2005) 313-318.
- Orlandi F., Rojo J., Picornell A., Oteros J., Pérez-Badia R. & Fornaciari M. 2020. *Impact of climate change of olive crop production in Italy*. Atmosphere 11, 595.
- Osada N., Takeda H., Okuda T. & Awang M. 2005. *Within crown variation in the timing of leaf emergence and fall of Malaysian trees in association with crown development patterns*. American Journal of Botany, 92, 1210–1214.
- Oteros J. 2014. *Modelización del ciclo feológico reproductor del olivo (Olea europaea L.)*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.

- Oteros J., Buters J., Laven G., Röseler S., Wachter R., Schmidt-Weber C. & Hoffman F. 2017. *Errors in determining the flow rate of Hirst-type pollen traps*. *Aerobiologia* 33: 201-210.
- Oteros J., Bartusel E., Alessandrini F., Núñez A., Moreno D., Behrendt H., Schmidt-Weber., et. al. 2019. *Artemisia Pollen is the main vector for airborne endotoxin*. *Journal Allergy Clin Immunol.* 143(1): 369-377.
- Pahus L., Gouitaa M., Sofalvi T., Alagha K., Gras D., Chanez P. & Charpin D. 2018. *Cypress pollen allergy is responsible for two distinct phenotypes of allergic rhinitis different from other pollinosis*. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 50(1): 28-35.
- Papageogiou, P.S. 1999. *Particularities of pollen allergies in Greece*. *Pediatr. Pulmonol.*, 27 (18): 168-171
- Pathirane L., 1975. *Aerobiological literatura in scientific periodicals*. Grana, 15:145-147.
- Pecero-Casimiro R., Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., Monroy-Colín A., Silva-Palacios I., Cortés-Pérez J.P., Gonzalo-Garijo Á. & Maya-Manzano, J.M., 2019. *Urban aerobiological risk mapping of ornamental trees using a new index based on LiDAR and Kriging: A case study of plane trees*. *Science of the Total Environment* 693.
- Pecero-Casimiro R., Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo Á., Monroy-Colín A., Coloma J.F. & Maya-Manzano J.M. 2020. *Producing Urban Aerobiological Risk Map for Cupressaceae Family in the SW Iberian Peninsula from LiDAR Technology*. *Remote sensing* 12:1562. Doi:10.3390/rs12101562.
- Peeters A. 1998. *Cumulative temperatures for prediction of the beginning of ash (Fraxinus excelsior L.) pollen season*. *Aerobiologia*, 14, 375–381.
- Peeters A. 2000. *Frost periods and beginning of the ash (Fraxinus excelsior L.) pollen season in Basel (Switzerland)*. *Aerobiologia* 16:353–9.
- Pla Damau J.M. 1958. *Aeropalinología gerundense*. *Anales del Instituto de Estudios Gerundenses*, 12: 63-68.

- Plotz S., Traidl-Hoffmann C., Feussner I., Kasche A., Feser A., Ring J. 2004. *Chemotaxis and activation of human peripheral blood eosinophils induced by pollen-associated lipid mediators*. J Allergy Clin Immunol. 113:1152-60.
- Poncet P., Senechal H., Clement G., Purohit A., Sutra J.P., Desvaux F.X., Wal J.M., Pauli, G., Peltre G. & Gougeon M.L. 2010. *Evaluation of ash pollen sensitization pattern using proteomic approach with individual sera from allergic patients*. Allergy 65: 571-580.
- Praglowski J. & Punt W. 1973. *An elucidation of the microreticulate structure of the exine*. Grana 13: 45-50.
- Prieto J, Hidalgo P, Domínguez E & Galán C. 2003. *Pollen production in the Poaceae family*. Grana 42: 1-7.
- Puiggròs A. 2012. *Prevalencia de sensibilización a los pólenes de los árboles plantados en la ciudad de Barcelona*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Purkinje J.E. 1830. *De Cellulis Antherarum Fibrosis nec non de Granorum Pollinarium Formis: Commentatio Phytotomica*. Grúson, Bratislava Pp. 58.
- R Core Team. 2018. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Recio M. & Toro F.J. 1997. *La Aerobiología como ciencia y sus aplicaciones*. Encuentros en la biología Vol 1. No. 42. Universidad de Málaga, España.
- Recio M. 1999. *Aerobiología: Breve introducción histórica*. REA Boletín, 5: 9-11.
- Reitsma T. 1970. *Suggestions towards unification of descriptive terminology of Angiosperms pollen grains*. Rev. Paleobotan. Palynol. 10:39-60.
- Rojo J. 2014. *Estudio de la fenología floral del Olivo (Olea europaea L.) y su relación con las variables ambientales*. Tesis Doctoral. Universidad Castilla-La Mancha, España.
- Rojo J., Orlandi F., Pérez-Badía R., Aguilera F., Ben Dhiab A., Bouziane H., Díaz de la Guardia C., Galán C., Guitiérrez-Bustillo A.M., Moreno-Grau S., Msallem M., Trigo M.M. & Fornaciari M. 2016. *Modeling olive pollen*

- intensity in the Mediterranean región through analysis of emission sources. Science of The Total Environment 551-552: 73-82.*
- Rojo J. & Pérez-Badia, 2015a. *Models for forecasting the flowering of Cornicabra olive groves*. Int. J. Biometeorol.
 - Rojo J. & Pérez-Badia, 2015b. *Spatiotemporal analysis of olive flowering using geostatistical techniques*. Science of the total Environment 505: 860-869.
 - Rojo J., Picornell A. & Oteros J. 2019. *AeRobiology: The computational tool for biological data in the air*. Methods in Ecology and Evolution 10 (8): 1371-1376.
 - Rolph G. 2014. *Real-time Environmental Applications and Display System (READY) Website* (<http://ready.arl.noaa.gov>). NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD.
 - Rosati A., Caporali S. & Paoletti A. 2012. *Floral biology: implications for fruit characteristics and yield*. En: Muzzalupo I (ed.) Olive germplasm, The olive cultivation. Table olive and olive oil industry in Italy. P. 71-80.
 - Sabariego, S. 2003. *Estudio aerobiológico del polen y las esporas de la atmósfera de Almería: Modelos de pronóstico e incidencia de sensibilización en la población atópica*. Tesis Doctora. Universidad de Almería
 - Sáenz C. 1978. *Polen y esporas (introducción a la Palinología y vocabulario palinológico)*. Ed. H. Blume Madrid. 219 pp.
 - Sáenz C. 2004. *Glosario de términos palinológicos*. LAZAROA 25: 93-112.
 - Sáenz C., Gutiérrez M. & Sánchez-Mateos V. 2003. *Fenología, Aerobiología y producción del olivar en Almodóvar del Campo (Castilla-La Mancha)*. Anales Jard. Bot. Madrid 60(1):73-81.
 - Salmond J., Tadaki M., Vardoulakis S., Arbuthnott K., Coutts A., Demuzere M., Dirks K. et.al. 2016. *Health and climate related ecosystem services provided by street trees in the urban environment*. Environmental Health 15: S36.
 - Ščevková J., Dušička J., Mičieta K., & Somorčík J. 2015. *Diurnal variation in airborne pollen concentration of six allergenic tree taxa and its relationship with meteorological parameters*. Aerobiologia, 31, 457–468.

- Schmidt-Grendelmeier P., Peeters A.G., Wahl R. & Wüthrich B. 1994. *Zur Bedeutung der Eschenpollenallergie*. Allergologie 17: 535-542.
- Schowalter T. 2016. Ecosystem structure and function. En: Schowalter T. (Ed) *Insect Ecology (Fourth edition)*. Academic Press. Pp. 367-404
- Schulzz C., Knopf P. & Stützel TH. 2005. *Identification key to the Cypress family (Cupressaceae)*. Feddes Repertorium 116:96–146.
- SEC. 2011. *COMMISSION STAFF WORKING PAPER establishing guidelines for demonstration and subtraction of exceedances attributable to natural sources under the Directive 2008/50/EC on ambient air quality and cleaner air for Europe*. Secretary-General of the European Commission, signed by Mr Jordi AYET PUIGARNAU, Director. Brussels, 2011.
- Sefc K., Lopes M., Mendonca D., Rodrigues Dos Santos M., Laimer Da Camara Machado M. & Da Camara Machado A. 2001. *Identification of microsatellite loci in olive (Olea europaea) and their characterization in Italian and Iberian olive trees*. Molecular Ecology 9: 1171-1193.
- SEIAC, Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. 2005. *Factores epidemiológicos clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005*. Egraf. Madrid, España.
- Silva-Palacios I., Tormo-Molina R. & Muñoz-Rodríguez A. 2000. *Influence of wind direction on pollen concentration in the atmosphere*. International Journal of Biometeorology 44: 128-133.
- Silva-Palacios I., Maya-Manzano J.M., Fernández-Rodríguez S., Tormo-Molina R., Monroy-Colín A., Gonzalo-Garijo Á., Muñoz Rodríguez A., et. al. 2016a. *Lamred extremeña de Aerobiología*. Rev. salud ambient. 16(1): 62-70.
- Silva-Palacios I., Fernández-Rodríguez S., Durán-Barroso P., Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M. & Gonzalo-Garijo Á. 2016b. *Temporal modelling and forecasting of the airborne pollen of Cupressaceae on the southwestern Iberian Peninsula*. International Journal of Biometeorology 60 (2): 297-306.
- Singh K., Gagné S. & Meentemeyer R. 2018. *Urban forests and human well-being*. En: Liang S. (ed). Comprehensive Remote Sensing Vol 9. Elsevier. Pp 287-305.

- Skjøth C, Sommer J., Stach A., Smith M. & Brandt J. 2007. *The long-range transport of birch (Betula) pollen from Poland and Germany causes significant pre-season concentrations in Denmark*. Clinical and Experimental Allergy 37, 1204-1212.
- Skjøth C., Smith M., Šikoparija B, Stach A., Myszkowska D., Kasprzyk I., et al. 2010. *A method for producing airborne pollen source inventories: an example of Ambrosia (ragweed) on the Pannonian Plain*. Agricultural and forest Meteorology 150(9): 1203-1210.
- Skjøth C., Sommer J., Frederiksen L. & Gosewinkel U. 2012. *Crop harvest in Denmark and Central Europe contributes to the local load of airborne Alternaria spore concentrations in Copenhagen*. Atmos. Chem. Phys. 12, 11107-11123.
- Skjøth C., Ørby P., Becker T., Geels C., Schlünssen V. & Sigsgaard T. 2013. *Identifying urban sources as cause of elevated grass pollen concentrations using GIS and remote sensing*. Biogeosciences 10. 541-554.
- Smith M., Jäger S., Berger U., et. al. 2014. *Geographic and temporal variations in pollen exposure across Europe*. Allergy 69 (7):913–923.
- Smith, E.G. 2000. *Sampling and identifying allergenic pollens and molds. An illustrated identification manual for air samplers*. Blewstone Press, San Antonio, U.S.A.
- Soler J., Jordan M., Miguel R., & Castells A. 2005. *Transporte de polen a grandes distancias*. Universidad de Catañuña. Pp 51-59.
- Soresen M., Barzetti V., Keipi K. & Williams J. 1997. *Manejo de las áreas verdes urbanas: documento de buenas prácticas*. Banco Interamericano de Desarrollo. Washington D.C.
- Spieksma F., Emberlin J., Hjemroos M., Jäger S. & Leuschner R. 1995. *Atmospheric birch (Betula) pollen in Europe: trends and fluctuations in annual quantities and the starting dates of the seasons*. Grana 34(1): 51-57.
- Stein AF., Draxler R., Rolph G., Stunder B., Cohen M. & Ngan F. 2015. *NOAA'S HYSPLIT atmospheric transport and dispersion modelling system*. BAMS, 12, 2059-2077.

- Sterling M., Rogers C. & Levetin E. 1999. Pollen and fungal spores indoor and outdoor of mobile homes. *Ann Allergy Asthma Immunol* 80 (3): 279-285.
- Stohl A. & Seibert P. 1998. *Accuracy of trajectories as determined from the conservation of meteorological tracers*. Q J R Meteorol Soc 124: 1465–1484 Part: A
- Suárez-Cervera M., Seoane-Camba J.A. 2004. *Biología celular del polen: origen y función de los alérgenos polínicos*. En: A. Valero, Cadahía A, eds. Polinosis II. Barcelona, MRA ediciones 2004: p 39- 50.
- Suarez-Cervera M., Castells T, Vega-Maray A, Civantos E, del Pozo V, Fernandez-Gonzalez D, Moreno-Grau S, Moral A, Lopez-Iglesias C, Lahoz C. & Seoane-Camba JA. 2008. *Effects of air pollution on cup a 3 allergen in Cupressus arizonica pollen grains*. *Ann Allergy Asthma Immunol* 101(1):57–66.
- Subiza J.M., Brito F., Pola J., Moral A., Fernández J., Jerez M. & Ferreiro M. 1998. *Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas*. *Alergol. Inmunol. Clin.* 13(2): 45-58.
- Subiza J.M., Jerez M., Jiménez J.A., Narganes M.J., Cabrera M., Varela S. & Subiza E., 1995. *Clinical aspects of allergenic disease. Allergenic pollen and polinosis in Madrid*. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 96(1): 15-23.
- Tabuenca M. & Herrero J. 1966. *Influencia de la temperatura en la época de floración de frutales*. *Ann. Est. Exp. Aula Dei*, 8 (1-2): 115-153.
- Tapper P. 1996. *Long-Term Patterns of Mast Fruiting in Fraxinus excelsior*. *Ecology*, 77(8), 2567–2572. doi:10.2307/2265756
- Tedeschini E., Rodríguez-Rajo F.J., Caramiello R., Jato V. & Frenguelli G. 2006. *The influence of climate changes in Platanus spp. Pollination in Spain and Italy*. *Grana* (45): 222-229.
- Tormo Molina R., Fernández Rodríguez S., Maya Manzano JM., Silva Palacios I. & Gonzalo Garijo Á. *Guía Botánica del campus de Badajoz de la Universidad de Extremadura*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Extremadura. ISBN: 978-84-608-7477-5. 219 pp.

- Tormo-Molina R., Muñoz A., Silva-Palacios I. & Gallardo F. 1996a. *Pollen production in anemophilous trees*. Grana 35(1): 38-46.
- Tormo-Molina R., Muñoz A. & Silva-Palacios I. 1996b. *Sampling in aerobiology. Differences between traverses along the length of the slide in Hirst sporetraps*. Aerobiologia (12): 161-166.
- Tormo-Molina R., Silva-Palacios I., Gonzalo-Garijo Á., Moreno A., Pérez R. & Fernández-Rodríguez S. 2011. *Phenological records as a complement to aerobiological data*. International Journal of Biometeorology 55 (1): 51-65.
- Tormo Molina R., Maya Manzano J.M., Fernández Rodríguez S., Gonzalo Garijo A. & Silva Palacios I., 2013. *Influence of environmental factors on measurements with Hirst spore traps*. Grana 52(1): 59-70.
- Tormo-Molina R., Maya-Manzano J.M., Silva-Palacios I., Fernández-Rodríguez S. y Gonzalo-Garijo A. 2015. *Flower production and phenology in Dactylis glomerata*. Aerobiologia 31: 469-479.
- Torrigiani T., Cecchi L., Morabito M., Onorari M., Domeneghetti M.P., Orlandini S. 2006. *Influence of meteorological conditions on male flower phenology of Cupressus sempervirens and correlation with pollen production in Florence*. Trees 21:507-514.
- Tortajada B., Mateu, I. 2008. *Cupressaceae pollen in the atmosphere of Valencia (East of Spain) and relationships with meteorological parameters*. Polen, 18: 51-59.
- Traidl-Hoffmann C., Kasche A., Jakob T., Huger M., Plotz S., Feussner I., Ring J. & Behrendt H. 2002. *Lipid mediators from pollen act as chemoattractants and activators of polymorphonuclear granulocytes*. J Allergy Clin Immunol. 109:831-8.
- Trigo M.M., Jato, V., Fernández D. & Galán C. 2008. *Atlas Aeropalínológico de España*. León: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de León.
- Trimmer L., Z. Solei, T.R. Gottwald, A.M. Ibañez & S.E. Ztiko. 1998. *Environmental factors affecting production, release, and field populations of conidia of Alternaria alternata, the cause of Brown spot of citrus*. Phytopathology, 88: 1219-1223.

- Turk J.L. 1991. *Experimental Researches on the Causes and Nature of Catarrhus Aestivus: Facsimile of the first edition 1873*. Journal of the Royal Society of Medicine. 1991: 84(1):61-62.
- Valdés B., Díez M.J. & Fernández I. 1987. *Atlas Polínico de Andalucía Occidental*. Instituto de Desarrollo Regional de la Universidad de Sevilla. Excma. Diputación de Cádiz. Utrera.
- Valero A. & Picado C. 2002. *Polinosis*. En: Valero A. & Cadahía Á. (eds). *Polinosis, polen y alergia*. Ma ediciones, S.L. Laboratorios menarini. España.
- Van Campo M. 1957. *Palynologie Africaine I*. Bull. Inst. Afrique Noire. Sér. A. (Senegal) 19:659-678.
- Wang Q, Morita J, N. S, Wu D, Gong X, Suzuki M, Miwa M. & Nakajima D. 2010. *Field investigation on modification of Japanese cedar pollen allergen in urban air-polluted area*. World Acad Sci Eng Technol 69:624–629.
- William A. 1789. *Hortus Kewensis, or A catalogue of the plants cultivated in the Royal Botanic Garden at Kew. Vol I, II and III*. London: Printed for George Nicol, Bookseller to his Majesty.
- Whittinghill, L. J., Bradley, D., Schutzki, R., & Cregg, B. M. 2014. *Quantifying carbon sequestration of various green roof and ornamental landscape systems*. Landscape and Urban Planning, 123, 41–48.
- Wodehouse, P.R. 1959. *Pollen Grains. Their structure, identification and significance in science and medicine*. HP, Hafner Publishing Co., New York.
- Yates IE & Sparks D. 1993. *Environmental regulation of anther dehiscence and pollen germination in pecan*. Journal of the American Society for Horticultural Science 118: 699–706.
- Zerboni R. & Manfredi M. 1988. *Utilization of aerobiology, phenological and phytogeographical data in allergology*. Aerobiologia (4): 27-32.
- Zhu W., Zhou P., Xie J., Zhao G. & Wei Z. *Advances in the pollination biology of olive (Olea europaea L.)*. Acta Ecologica Sinica 33 (2013): 64-71.
- Ziello C., Sparks T., Estrella N., Belmonte J., Bergmann, K., Bucher E., et al. 2012. *Changes to airborne pollen counts across Europe*. PLoS ONE, 7 (4), e34076. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034076>.

- Ziska L., László M., Harry S., Bruffaerts N., Hendrickx M., Coates F. *et. al.* 2019. *Temperature-related changes in airborne allergenic pollen abundance and seasonality across the northern hemisphere: a retrospective data analysis.* Lancet Planetary Health 3(3): 124-131.

10. Anexo

10.1. Índice de figuras

Figura 1. Capas de esporodermis mediante corte transversal.	32
Figura 2. Elementos suprategmiales y vista en superficie de las diversas organizaciones del tégmen.	35
Figura 3. Esquema de los procesos aerobiológicos.	39
Figura 4. Esquemas de los diferentes métodos de captación de partículas.	41
Figura 5. Grano de polen de <i>Fraxinus angustifolia</i>	48
Figura 6. Grano de polen de Cupressaceae.	50
Figura 7. Grano de polen de <i>Olea europaea</i>	52
Figura 8. Red Extremeña de Aerobiología que incluye el captador de la ciudad de Badajoz.	60
Figura 9. Mapa de cultivos y aprovechamiento de la ciudad de Badajoz y alrededores.	63
Figura 10. Captador volumétrico tipo Hirt utilizado en la toma de muestras.	64
Figura 11. Proceso utilizado para la toma de muestras.	66
Figura 12. Estación meteorológica ubicada cerca del captador.	70
Figura 13. Ejemplificación de las fenofases en <i>Fraxinus angustifolia</i>	73
Figura 14. Ejemplificación de las fenofases en Cupressaceae.	74
Figura 15. Ejemplificación de las fenofases en <i>Olea europaea</i>	75
Figura 16. Ejemplares de <i>Fraxinus angustifolia</i> y ubicación del captador volumétrico dentro de la ciudad de Badajoz.	79
Figura 17. Ejemplares de <i>Olea europaea</i> y ubicación del captador volumétrico dentro de la ciudad de Badajoz.	80
Figura 18. Ejemplares de Cupressaceae y ubicación del captador volumétrico dentro de la ciudad de Badajoz.	81

10.2. Índice de tablas

Tabla 1. Terminología usada por diferentes autores para describir la forma de los granos de polen.	34
Tabla 2. Parámetros utilizados y unidad de medida.	70
Tabla 3. Datos generales comparativos de <i>Fraxinus angustifolia</i> , <i>Olea europaea</i> y <i>Cupressaceae</i>	78